

Sphäroidkörper in Endosymbiose mit *Rhopalodia*
gibba:
Analysen des Genoms
und
Transkriptstudien der Nitrogenase

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Biologie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Christine Dede
aus Kiel

Marburg/Lahn 2010

Vom Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am
17. November 2010 angenommen.

Erstgutachter Prof. Dr. Uwe-G. Maier

Zweitgutachter Prof. Dr. Klaus Lingelbach

Tag der mündlichen Prüfung am 17. November 2010

Teile dieser Arbeit wurden publiziert in:

Kneip C, Voß C, Lockhart PJ, Maier UG (2008). The cyanobacterial endosymbiont of the unicellular algae *Rhopalodia gibba* shows reductive genome evolution. **BMC Evol Biol. 8: 30.**

Weitere Publikationen:

Kneip C, Lockhart P, Voß C, Maier UG (2007). Nitrogen fixation in eukaryotes--new models for symbiosis. **BMC Evol Biol. 7: 55.**

Sommer MS, Gould SB, Kawach O, Klemme C, Voß C, Maier UG, Zauner S (2006). Photosynthetic organelles and endosymbiosis. **In: Genomics and Evolution of Microbial Eukaryotes. Katz LA, Bhattacharya D (Hrsg.). Oxford (Großbritannien): Oxford University press. 94-108.**

Kawach O, Sommer MS, Gould SB, Voß C, Zauner S, Maier UG (2006). Nucleomorphs: remnant nuclear genomes. **In: Genomics and Evolution of Microbial Eukaryotes. Katz LA, Bhattacharya D (Hrsg.). Oxford (Großbritannien): Oxford University press. 192-200.**

Kawach O, Voß C, Wolff J, Hadfi K, Maier UG, Zauner S (2005). Unique tRNA introns of an enslaved algal cell. **Mol Biol Evol. 22 (8): 1694-701.**

I. Abkürzungen

A	Adenin	μL	Mikroliter
Ac	Acetat	μM	mikromolar
ADP	Adenosindiphosphat	μm	Mikrometer
APS	Ammoniumperoxodisulfat	Mbp	Megabasenpaare
ATP	Adenosintriphosphat	mg	Milligramm
bp	Basenpaar(e)	min	Minute
BSA	<i>bovine serum albumin</i>	mL	Milliliter
°C	Grad Celsius	mM	millimolar
C	Cytosin	mm	Millimeter
cDNA	<i>copy</i> Desoxyribonukleinsäure	MOPS	3-(N-Morpholino)- propansulfonsäure
cm	Zentimeter	NADPH	reduzierte Form des Nicotinamid-Adenin- Dinukleotidphosphat
COG	<i>cluster of orthologous groups</i>	ng	Nanogramm
C _t	<i>cycle threshold</i>	nM	nanomolar
CTAB	Cetyltrimethylammonium- bromid	nmol	Nanomol
ddH ₂ O	doppelt destilliertes Wasser	OD	optische Dichte
dH ₂ O	einfach destilliertes Wasser	ORF	offener Leserahmen
DNA	Desoxyribonukleinsäure	PCI	Phenol/Chloroform/ Isoamylalkohol
e ⁻	Elektron	PCR	Polymerasekettenreaktion
EDTA	Ethylendiamintetraacetat	Phe	Phenylalanin
G	Guanin	P _i	anorganisches Phosphat
g	Gramm	pM	pikomolar
h	Stunde	pmol	Pikomol
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)- 1- piperaziny)- ethansulfonsäure	rDNA	ribosomale Desoxyribonukleinsäure
IS	<i>insertion sequence</i>	RNA	Ribonukleinsäure
kb	Kilobasen	rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
L	Liter	s	Sekunde
μg	Mikrogramm	SDS	Natriumdodecylsulfat

SLS	Natriumlaurylsulfat
T	Thymin
TEMED	Tetramethylethyldiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)- amino-methan
tRNA	transfer Ribonukleinsäure
U	Uracil
U	<i>unit</i>
v/v	<i>volume per volume</i>
w/v	<i>weight per volume</i>

II. Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1-1:	Stadien der Symbiogenese (modifiziert nach Kneip 2004)..	3
Abbildung 1-2:	Stickstofffixierung durch den Nitrogenase-Komplex (nach Nelson und Cox 2001).....	7
Abbildung 1-3:	Licht- (links) und fluoreszenzmikroskopische (rechts) Aufnahme sich teilender <i>Rhopalodia gibba</i> Zellen (nach Kneip 2004).	10
Abbildung 1-4:	Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Sphäroidkörpers (nach Prechtel et al. 2004).	10
Abbildung 1-5:	<i>Minimum evolution</i> Stammbaum verschiedener 16S rDNA Sequenzen (nach Prechtel et al. 2004).....	11
Abbildung 2-1-1:	Karte der sequenzierten Fosmide SK12B6, SK40G7, SKKH3-1-C, SK13A12, SK20A4, SK32H8, SKKH5A, SK40A11, SKKH-26-C, SK5F5, SK29A9, SK8G11, SK3B7, SK4B5, SK3E12, SK11F6, SK19D8, SK4D1, SK3B4, SK32A5, SK42B10 und SK42C10..	17-21
Abbildung 2-1-2:	Relative Kodonverwendung der Sphäroidkörper, <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 und <i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801.	24
Abbildung 2-1-3:	Relative Aminosäureverwendung der Sphäroidkörper, <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 und <i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801... ..	25
Abbildung 2-1-4:	Relativer Anteil an putativ aktiven Genen der funktionellen Kategorien der Sphäroidkörper und <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142.....	27
Abbildung 2-1-5:	Absoluter Anteil an Genen und Pseudogenen der funktionellen Kategorien der Sphäroidkörper.....	28
Abbildung 2-1-6:	Alignments von RecA und RecF mit Homologen der Sphäroidkörper (SK) und <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 (CY)....	32
Abbildung 2-1-7:	Vergleich ausgewählter Regionen des Genoms der Sphäroidkörper mit korrespondierenden Abschnitten des Genoms <i>Cyanothece</i> sp. CCY 0110..	36
Abbildung 2-3-1:	Unterschiede im <i>nifD</i> Transkriptlevel basierend auf Tabelle 2-3-2.....	44
Abbildung 2-3-2:	Unterschiede im <i>nifD</i> Transkriptlevel basierend auf Tabelle 2-3-3.....	45
Abbildung 3-1-1:	Umstrukturierungen im endosymbiontischen Genom im Zuge der Koevolution.....	71
Tabelle 2-1-1:	Grundsätzliche Charakteristika des Genoms der Sphäroidkörper.	23

Tabelle 2-2-1:	Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern pro <i>Rhopalodia gibba</i> Zelle im Medium nach Floener und Bothe und im MBL-Medium.	38
Tabelle 2-3-1:	C _t - und ΔC _t -Werte der <i>Real Time</i> -PCR Experimente basierend auf der RNA aus <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142.....	42
Tabelle 2-3-2:	Bestimmung der Unterschiede im <i>nifD</i> Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142, im Verlauf von 24 Stunden relativ zum höchsten ΔC _t -Wert um 12.00 Uhr (Abbildung 2-3-1).....	43
Tabelle 2-3-3:	Tabelle 2-3-3: Bestimmung der Unterschiede im <i>nifD</i> Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 Zellen, in Medien ohne Nitrat relativ zu Medien mit Nitrat (Abbildung 2-3-2).	44
Tabelle 2-3-4:	C _t - und ΔC _t -Werte der <i>Real Time</i> -PCR Experimente basierend auf der RNA der Sphäroidkörper aus <i>Rhopalodia gibba</i>	46
Tabelle 2-3-5:	Bestimmung der Unterschiede im Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus <i>Rhopalodia gibbas</i> Sphäroidkörpern, im Verlauf von 24 Stunden relativ zum höchsten ΔC _t -Wert um 10.00 Uhr..	46
Tabelle 2-3-6:	Bestimmung der Unterschiede im Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus <i>Rhopalodia gibbas</i> Sphäroidkörpern, in Medien ohne Nitrat relativ zu Medien mit Nitrat... ..	47
Tabelle 3-1-1:	Identifizierte DNA-Reparatursysteme der Sphäroidkörper, <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142, <i>Sodalis glossinidius</i> ‘, des Endosymbionten <i>Paulinella chromatophoras</i> und <i>Buchnera aphidicolas</i> sp. APS..	57
Tabelle 3-1-2:	G/C-Gehalt der Genome frei lebender Cyanobakterien und bakterieller Endosymbionten..	63
Tabelle 3-1-3:	G/C-Gehalt der drei Kodonpositionen in kodierenden Regionen der Genome frei lebender Cyanobakterien und bakterieller Endosymbionten.....	64
Tabelle 3-2-1:	Verhältnis von N:P im Medium nach Floener und Bothe und im MBL-Medium.....	74

III. Inhalt

I.	Abkürzungen.....	I
II.	Abbildungen und Tabellen	III
III.	Inhalt.....	V
1	Einleitung.....	1
1.1	Symbiose	1
1.2	Endosymbiontentheorie	2
1.3	Symbiogenese	2
1.4	Genetische Veränderungen in der Symbiogenese.....	4
1.5	Biologische Stickstofffixierung	5
1.6	Cyanobakterien	8
1.7	Diatomeen.....	9
1.8	<i>Rhopalodia gibba</i> und seine Sphäroidkörper.....	9
1.9	Zielsetzung	13
2	Ergebnisse.....	14
2.1	Analyse des Genoms der Sphäroidkörper aus <i>Rhopalodia gibba</i>	14
2.1.1	Identifizierung und Sequenzierung von Fosmiden mit Sphäroidkörper-DNA.....	14
2.1.2	Analyse des Genoms der Sphäroidkörper	22
2.1.3	Nicht kodierende Regionen	23
2.1.4	Kodon- und Aminosäureverwendung	23
2.1.5	Metabolisches Potential der Sphäroidkörper.....	26
2.1.6	Pseudogene im Genom der Sphäroidkörper	34
2.2	Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern	37
2.3	Quantitativer Nachweis der Transkriptlevel von <i>nifD</i> aus <i>Rhopalodia gibbas</i> Sphäroidkörpern und aus <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	40
2.3.1	RNA-Isolation aus Sphäroidkörpern und <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	40
2.3.2	Quantitative <i>Real Time</i> -PCR	40
2.3.3	Relative Quantifizierung der <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 <i>nifD</i> mRNA	42
2.3.4	Relative Quantifizierung der Sphäroidkörper <i>nifD</i> mRNA	45
3	Diskussion.....	48
3.1	Analyse des Genoms der Sphäroidkörper aus <i>Rhopalodia gibba</i>	48
3.1.1	Metabolisches Potential der Sphäroidkörper.....	48

3.1.2	G/C-Gehalt und Kodon-Nutzung im Sphäroidkörper	62
3.1.3	Pseudogene im Genom der Sphäroidkörper	66
3.1.4	IS-Elemente im Sphäroidkörper	68
3.1.5	Genomgröße der Sphäroidkörper.....	69
3.1.6	Alter der <i>Rhopalodia gibba</i> - Sphäroidkörper Assoziation	71
3.1.7	Der Sphäroidkörper als Stickstoff fixierendes Organell?.....	72
3.2	Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern	73
3.3	Quantitativer Nachweis der Transkriptlevel von <i>nifD</i> aus <i>Rhopalodia gibbas</i> Sphäroidkörpern und aus <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	76
3.3.1	Relative Quantifizierung der <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 <i>nifD</i> mRNA	77
3.3.2	Relative Quantifizierung der Sphäroidkörper <i>nifD</i> mRNA	77
3.3.3	Regulation der biologischen Stickstofffixierung	78
3.4	Ausblick.....	83
4	Zusammenfassung	84
5	Material und Methoden	85
5.1	Chemikalien	85
5.2	Medien, Puffer und Lösungen	85
5.3	Oligonukleotide.....	85
5.4	Vektoren.....	86
5.5	Organismen.....	87
5.6	Software	87
5.7	Zellkultur.....	87
5.7.1	Zellkultur von <i>Escherichia coli</i>	87
5.7.2	Zellkultur von <i>Rhopalodia gibba</i>	88
5.7.2	Zellkultur von <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	89
5.8	Transformation	90
5.9	Koloniehybridisierung	91
5.10	Auszählung von Sphäroidkörpern.....	93
5.11	Isolation von Sphäroidkörpern aus <i>Rhopalodia gibba</i>	93
5.12	Isolation von DNA und RNA	94
5.12.1	Isolation von DNA	94
5.12.1.1	Isolation von DNA aus <i>Rhopalodia gibba</i> , Sphäroidkörpern und <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	94
5.12.1.2	Isolation von DNA aus <i>Escherichia coli</i>	95

5.12.2	Isolation von RNA.....	96
5.13	Vervielfältigung von DNA und RNA.....	96
5.13.1	Vervielfältigung von DNA.....	96
5.13.2	Vervielfältigung von RNA.....	96
5.13.2.1	cDNA Synthese.....	96
5.13.2.2	<i>Real Time-PCR</i>	97
5.14	Agarosegelelektrophorese	97
5.15	Restriktion und Ligation	98
5.16	Herstellung einer <i>Shotgun</i> -Plasmidbibliothek	98
5.17	Sequenzierung	99
5.17.1	Das LI-COR™-System	99
5.17.2	Das ABI-System	100
5.17.3	Das MegaBACE™-System	101
6	Literatur	102
7	Anhang.....	114
7.1	Oligonukleotide für den Lückenschluss der Fosmide.....	114
7.1.1	Lückenschluss von SK12B6	114
7.1.2	Lückenschluss von SK40G7.....	114
7.1.3	Lückenschluss von SKKH3-1-C	114
7.1.4	Lückenschluss von SK32H8	115
7.1.5	Lückenschluss von SK40A11	115
7.1.6	Lückenschluss von SKKH26-C.....	116
7.1.7	Lückenschluss von SK5F5	116
7.1.8	Lückenschluss von SK29A9.....	117
7.1.9	Lückenschluss von SK8G11	117
7.1.10	Lückenschluss von SK3B7	117
7.1.11	Lückenschluss von SK4B5	118
7.1.12	Lückenschluss von SK3E12	118
7.1.13	Lückenschluss von SK11F6.....	118
7.1.14	Lückenschluss von SK19D8.....	119
7.1.15	Lückenschluss von SK4D1	119
7.1.16	Lückenschluss von SK3B4	120
7.1.17	Lückenschluss von SK32A5.....	120
7.1.18	Lückenschluss von SK42C10	121

7.2	Größe der sequenzierten Fosmide und ihrer <i>Contigs</i>	121
7.3	Identifizierte ORFs des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper...	123
7.4	Identifizierte Pseudogene des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper	143
7.5	COGs der identifizierten ORFs des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper	149
7.6	COGs der identifizierten Pseudogene des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper	170
7.7	Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern	177
7.8	C _t -Werte der <i>Real Time</i> -PCRs	178

1 Einleitung

1.1 Symbiose

De Bary führte den Begriff der Symbiose erstmals 1878 als „die Erscheinung des Zusammenlebens ungleichnamiger Organismen“ ein (de Bary 1878). Die Grundlage dafür bildeten seine Arbeiten an Flechten, also Assoziationen von Pilzen mit photosynthetisch aktiven Organismen. Symbiose beschreibt im weiteren Sinne das Zusammenleben zweier Arten, unabhängig davon, ob sie für beide oder nur für einen Organismus von Vorteil ist. Damit werden die Begriffe Parasitismus, der den Nutzen des einen Organismus zum Schaden des anderen beschreibt und Kommensalismus, der den Nutzen eines Organismus ohne Schaden des anderen beschreibt sowie Mutualismus, der einen Nutzen für beide Organismen beschreibt, erfasst. Im engeren Sinne wird der Begriff Symbiose gleichgesetzt mit dem Begriff Mutualismus und beschreibt daher nur das Zusammenleben zweier Organismen unterschiedlicher Arten zum gegenseitigen Nutzen. Im Folgenden wird hier der Begriff Symbiose als Synonym für den Begriff Mutualismus verwendet.

Symbiosen findet man in allen Domänen der Lebewesen. Beispiele sind der Celluloseabbau durch Mikroorganismen im Darm von Termiten, die Photosynthese durch einzellige Algen in Gemeinschaft mit Korallen und die Interaktionen zwischen Blütenpflanzen und ihren Bestäubern (Warnecke et al. 2007, Venn et al. 2008, Bronstein et al. 2006). Der Nutzen einer Symbiose ist entsprechend ihrem Verbreitungsgrad ausgesprochen vielfältig und dient unter anderem dem Schutz vor Fressfeinden, der Versorgung mit Nährstoffen und der Fortpflanzung. Man unterscheidet temporäre von permanenten Symbiosen, also zeitlich begrenzte bzw. nicht begrenzte Interaktionen. Fakultative Symbiosen, bei der beide Partner unabhängig voneinander leben können, lassen sich von obligaten Symbiosen, bei der zumindest das Überleben eines Partners vom anderen abhängig ist, abgrenzen. Zudem differenziert man Ektosymbiosen, bei der die Partner einer Symbiose körperlich voneinander getrennt bleiben, von Endosymbiosen, bei der ein Partner im Körper des anderen lebt. Dabei umfasst der Begriff Endosymbiose die extra-, inter-, oder intrazelluläre Lokalisation des Symbionten. Die intrazelluläre Lokalisation eines Symbionten wird zudem genauer als Endozytobiose definiert (Margulis 1990).

1.2 Endosymbiontentheorie

Nach der Endosymbiontentheorie sind die Organellen der Eukaryoten, die Plastiden und die Mitochondrien, aus endosymbiontischen Prokaryoten entstanden. Schimper beobachtete bereits 1885, dass Plastiden nicht *de novo* entstehen und vermutete daher eine symbiotische Assoziation zwischen Plastiden und Pflanzenzellen (Schimper 1885). Die Endosymbiontentheorie, nach der Cyanobakterien Vorläufer der Plastiden sind, wurde erstmals 1905 von Mereschkowsky formuliert und 1970 von Margulis erneut aufgegriffen (Mereschkowsky 1905, Margulis 1970). Bestätigt durch strukturelle und genetische Analysen wird heute allgemein anerkannt, dass primäre Plastiden vor 1,5 Milliarden Jahren durch die Endozytose eines ursprünglichen Cyanobakteriums und Mitochondrien vor etwa zwei Milliarden Jahren durch die Endozytose eines ursprünglichen α -Proteobakteriums entstanden sind (Yoon et al. 2004, Martin und Russell 2003, Kutschera und Niklas 2005).

1.3 Symbiogenese

Die Symbiogenese beschreibt den Prozess der Entstehung neuer Lebensformen durch die Verschmelzung verschiedener Organismen im Laufe ihrer Evolution (Abbildung 1-1; Margulis, 1993). Die physiologische Grundlage der Symbiogenese ist oft eine wechselseitige Syntrophie, bei der jede Spezies Produkte der anderen Spezies nutzt, so dass beispielsweise zwei unabhängige Populationen von heterotrophen und autotrophen Organismen eine neue Population mixotropher Organismen bilden (Reisser 1992, Thingstad et al. 1996). Eine symbiotische Assoziation wird möglich, wenn zwei Spezies das gleiche Habitat besiedeln und damit in räumlicher Nähe zueinander stehen. Kann dabei das Stoffwechselprodukt eines Partners vom anderen als Substrat verwertet werden, entwickelt sich aus einer zunächst lockeren Assoziation oft eine epibiontische Lebensweise, bei der der kleinere Partner auf dem größeren lebt und damit ein effizienterer Austausch der Stoffwechselprodukte ermöglicht wird (Kooijman et al. 2003). Der nächsten Stufe der Symbiogenese, der intrazellulären Lokalisation des Symbionten, geht ein an die Endozytose erinnernder Prozess voraus, bei der der Symbiont von der Wirtszelle

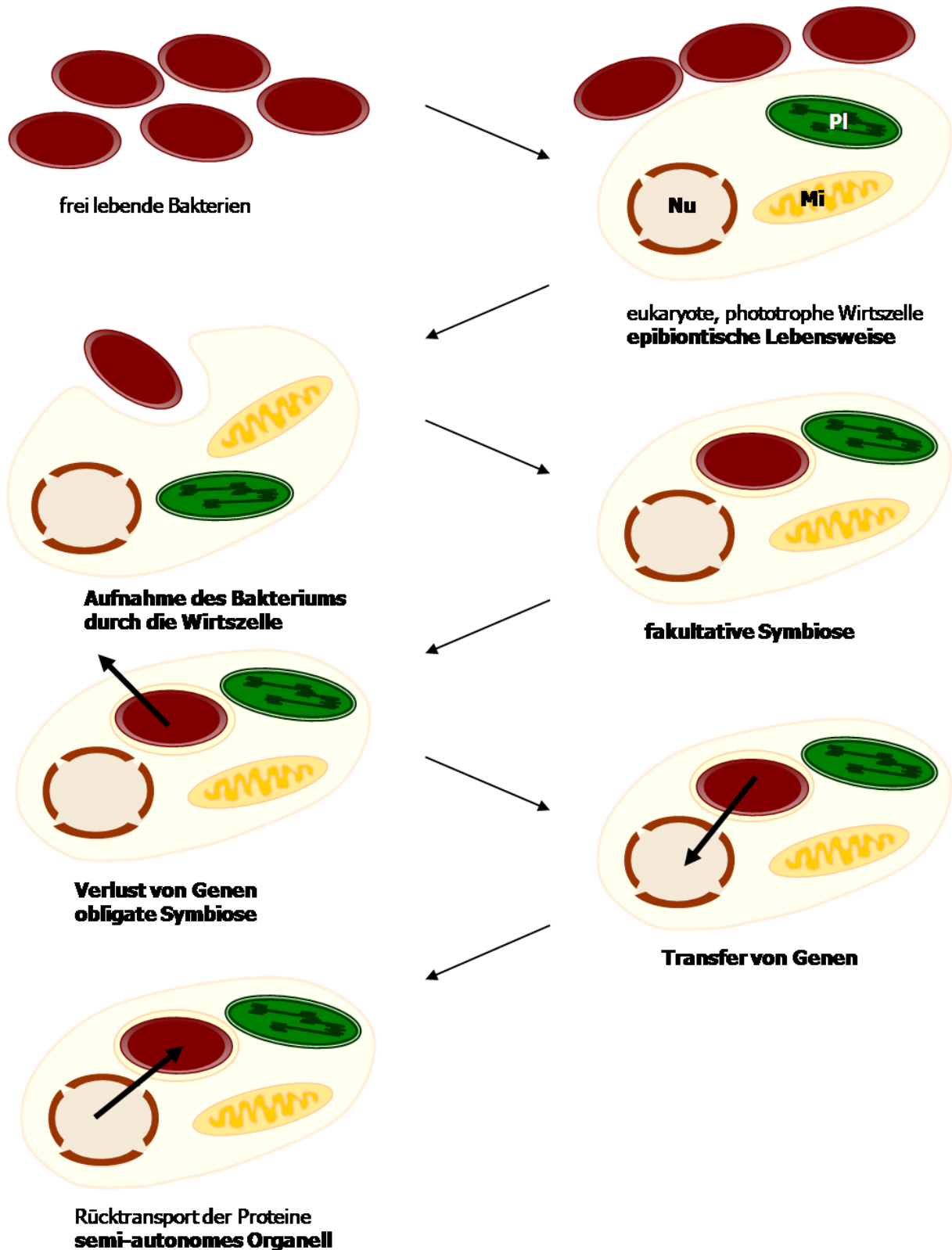


Abbildung 1-1: Stadien der Symbiogenese (modifiziert nach Kneip 2004). Nach der Ausbildung einer epibiontischen Lebensweise wird das Bakterium von der eukaryoten Wirtszelle aufgenommen. Die dabei entstehende Symbiose ist zunächst fakultativ. Durch den Verlust und den Transfer von Genen in den Nukleus des Wirts erreicht die Symbiose einen obligaten Status. Der Rücktransport der Proteine führt schließlich zur Ausbildung eines semi-autonomen Organells. Nu: Nukleus, Pl: Plastide, Mi: Mitochondrium.

aufgenommen wird. Eine intrazelluläre Lokalisation des Symbionten erleichtert den Austausch von Stoffwechselprodukten und bietet dem Symbionten zudem ein stabiles Milieu und Schutz vor eventuell vorhandenen Fressfeinden. Der weitere Verlauf der Symbiogenese ist durch eine degenerative Evolution des Symbionten gekennzeichnet, die sich in Veränderungen auf genomischer und damit verbunden auch auf morphologischer und physiologischer Ebene ausdrückt und der Optimierung der Stoffwechselmaschinerie der chimären Zelle dient (Hoffmeister und Martin 2003). Hat in Folge der Umstrukturierungen ein Transfer von Genen des Symbiontengenoms zum Wirtsgenom stattgefunden und werden die entsprechenden Genprodukte zurück in den Symbionten transportiert, hat der Symbiont den Status eines semi-autonomen Organells erreicht (Kapitel 3.1.7; Keeling und Archibald 2008).

1.4 Genetische Veränderungen in der Symbiogenese

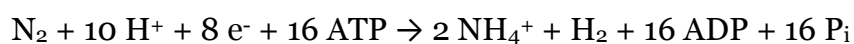
Nach Etablierung einer Endocytobiose ist die weitere Entwicklung in Folge der Koevolution von degenerativen genetischen Umstrukturierungen geprägt, die vor allem das Genom des aufgenommenen Organismus betreffen (Hoffmeister und Martin 2003). So gehen Gene, deren Produkte für das Überleben des Symbionten auf Grund seiner intrazellulären Lebensweise nicht mehr essentiell sind, verloren. Das können Gene sein, die bereits im Genom des Wirtes kodiert sind oder die Proteine kodieren, welche für den Aufbau einer Zellwand oder anderer Stoffwechselleistungen nicht mehr benötigt werden (Douglas und Raven 2003, Kooijman et al. 2003). Der Symbiont kann nun auf Grund der Reduktion seines Genoms nicht mehr frei lebend existieren und ist auf die Stoffwechselleistungen seines Wirtes angewiesen. Die Symbiose erreicht damit einen obligaten Status, zudem wird der Symbiont vertikal an die nächste Wirtsgeneration weitergegeben. Auf Grund dieser vertikalen Weitergabe existiert der Symbiont nun isoliert vom Genpool seiner frei lebenden Verwandten, was eine Anhäufung von Mutationen im Genom zur Folge hat, die durch das Konzept *Muller's ratchet* beschrieben wird. Dabei nimmt nach Muller die genetische Fitness innerhalb einer sich asexuell vermehrenden Population durch geringe Populationsgrößen und fehlende Möglichkeiten zur Rekombination stetig ab (Muller 1964, Andersson und Kurland 1998).

Die zahlreichen, das Genom des intrazellulär lebenden Organismus betreffenden, Veränderungen treten vermutlich kurz nach der Endozytose des Symbionten auf. Das zunächst vermehrte Vorkommen mobiler IS-Elemente mit der Möglichkeit homologer Rekombination führt zu Deletionen und Umstrukturierungen ganzer Genomabschnitte durch Inversionen oder Translokationen (Moran und Plague 2004). Als Folge von Deletionen, Insertionen oder *nonsense*-Mutationen treten zudem vermehrt Pseudogene auf.

Nach diesen Umstrukturierungen zeichnen sich die Genome etablierter, obligater Endosymbionten durch außerordentliche Stabilität aus, verbunden mit dem Verlust der IS-Elemente und dem Verlust von Komponenten, die die Rekombination homologer DNA-Abschnitte ermöglichen (z. B. RecA; Tamas et al. 2002). Das Genom etablierter obligater Endosymbionten ist mit einer hohen Gendichte, wenig Pseudogenen und kurzen intergenischen Bereichen in seiner Größe extrem reduziert und weist zudem einen im Vergleich zu frei lebenden Verwandten erhöhten A/T-Gehalt, besonders an synonymen Positionen und in intergenischen Bereichen, auf (Moran 1996, Silva et al. 2001). Der höhere A/T-Gehalt ist dabei vermutlich auf den Verlust von Reparaturkomponenten, beispielsweise RecA und RecF, oder einen Mangel an fixiertem Stickstoff zurückzuführen (Moran und Wernegreen 2000, Dufresne et al. 2005).

1.5 Biologische Stickstofffixierung

Für Organismen ist Stickstoff als Bestandteil der Proteine, der DNA und anderer wichtiger organischer Moleküle ein essentielles Element, das durch die biologische Stickstofffixierung reduziert und damit in eine biologisch verfügbare Form umgewandelt wird (Abbildung 1-2). Auf Grund der sehr stabilen Dreifachbindung ist molekularer Stickstoff extrem reaktionsträge, so dass für den Prozess der biologischen Stickstofffixierung große Mengen an Energie in Form von ATP und Reduktionsäquivalenten aufgewendet werden müssen. Als Produkt der biologischen Stickstofffixierung entsteht nach folgender Reaktionsgleichung Ammonium:



Dabei wird Ammonium zunächst in Aminosäuren und anschließend in andere stickstoffhaltige Moleküle eingebaut (Halbleib und Ludden 2000).

Die biologische Stickstofffixierung ist eine ausschließliche Leistung bestimmter Prokaryoten, die entweder frei, beispielsweise *Azotobacter* im Boden und Cyanobakterien im Boden, Süß- und Salzwasser, oder in Symbiose, beispielsweise *Rhizobium* sp. in Leguminosen, *Frankia* sp. in Erlen oder *Anabaena* sp. im Wasserfarn *Azolla*, leben (Yates 1970, Berman-Frank et al. 2003, Appleby 1984, Newcomb und Wood 1987, Peters und Mayne 1974).

Der Prozess der biologischen Stickstofffixierung ist relativ komplex und erfordert das Zusammenwirken verschiedener Enzyme, die als Nitrogenase-Komplex zusammengefasst werden und vom *nif*-Operon kodiert werden. Dabei ist die Nitrogenase das zentrale Enzym, aufgebaut aus der Nitrogenase-Reduktase und der Nitrogenase. Die Nitrogenase-Reduktase ist ein Dimer aus zwei identischen Untereinheiten, kodiert durch das Gen *nifH*. Sie weist ein einzelnes 4Fe-4S-Redoxzentrum auf und kann durch ein einziges Elektron oxidiert oder reduziert werden. Zudem enthält sie zwei Bindungsstellen für ATP oder ADP. Die Nitrogenase ist ein Tetramer mit zwei Kopien zweier unterschiedlicher Untereinheiten, kodiert durch die Gene *nifD* und *nifK*, das aktive Zentrum enthält sowohl Eisen als auch Molybdän, pro Tetramer zwei Mo-Atome, 32 Fe-Atome und 30 S-Atome. Dabei liegen die Hälfte der Fe- und S-Atome als Paare aus 4Fe-4S-Zentren vor, die übrigen sind Teil eines Fe-Mo-Kofaktors (Nelson und Cox 2001). Zudem gibt es Nitrogenaseformen, die statt Molybdän Vanadium oder nur Eisen enthalten (Eady 1996). Gemeinsam ist allen Genen des *nif*-Operons, dass sie nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen transkribiert werden.

Ein Charakteristikum des Nitrogenase-Komplexes ist seine extreme Instabilität in Anwesenheit von Sauerstoff. Das Problem lösen Stickstoff fixierende Prokaryoten auf unterschiedliche Weise. So leben manche Stickstoff fixierende Prokaryoten ausschließlich anaerob (Leschine et al. 1988). Einige aerobe Arten wie *Azotobacter* entkoppeln den Elektronentransport teilweise von der ATP-Synthese, so dass der Sauerstoff genauso schnell verbraucht wird, wie er in die Zelle gelangt (Kuhla und Oelze 1988). Manche filamentöse Stickstoff fixierende Cyanobakterien differenzieren einen Teil ihrer Zellen zu Heterozysten, die auf Stickstofffixierung spezialisiert sind. Diese betreiben keine Sauerstoff produzierende Lichtreaktion der Photosynthese mehr, weisen besonders dicke Zellwände auf, die das Eindringen von

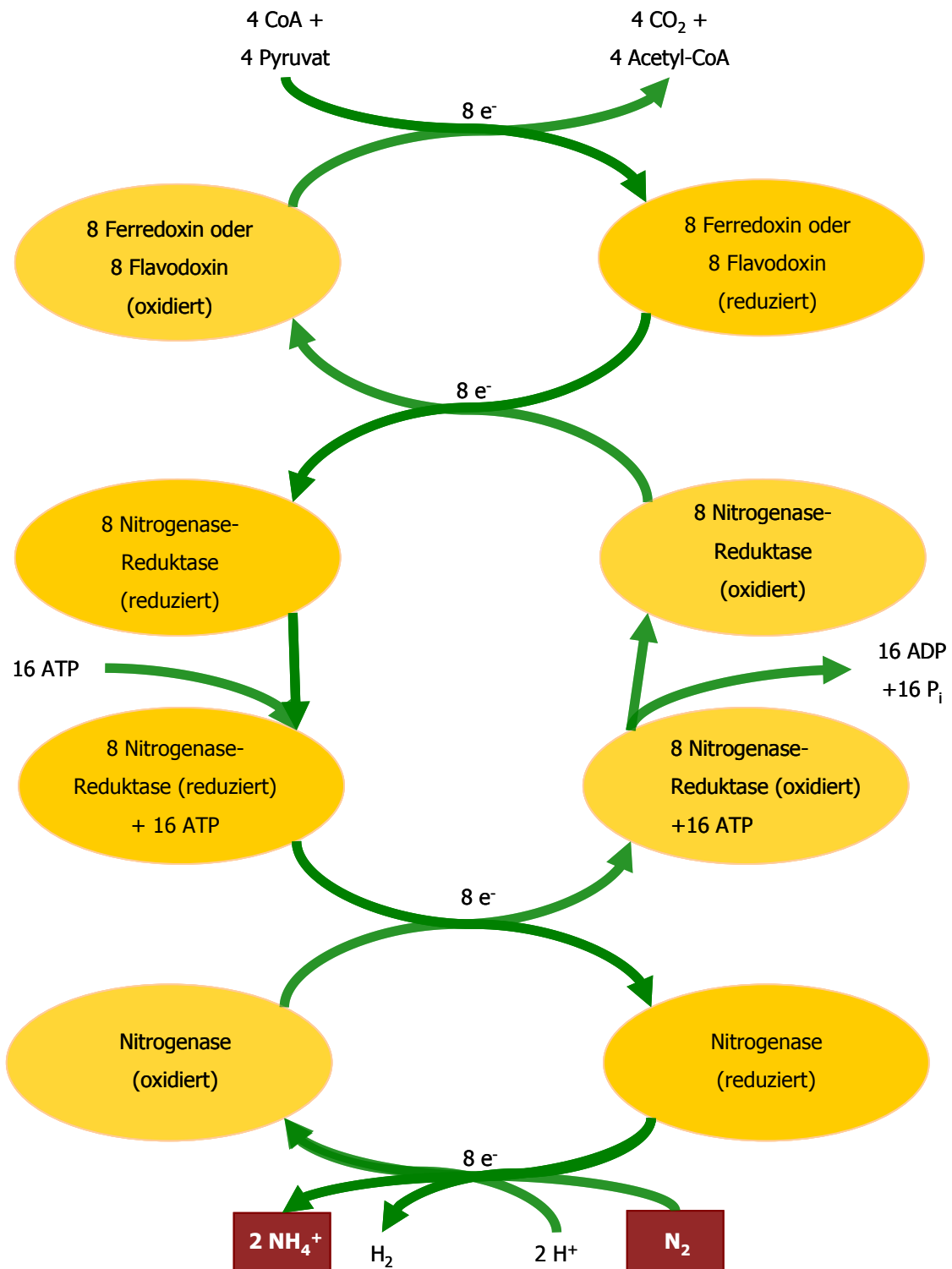


Abbildung 1-2: Stickstofffixierung durch den Nitrogenase-Komplex (nach Nelson und Cox 2001). Elektronen von Pyruvat werden über Ferredoxin oder Flavodoxin und die Nitrogenase-Reduktase auf die Nitrogenase übertragen. Dabei wird die Nitrogenase durch die Übertragung von je einem Elektron der Nitrogenase-Reduktase reduziert, zur Fixierung eines Moleküls N₂ werden also mindestens sechs Elektronen benötigt. Für die Reduktion von zwei H⁺ zu H₂ werden zwei weitere Elektronen verbraucht. Insgesamt sind zur Fixierung eines Moleküls N₂ also acht Elektronen erforderlich. CoA: Koenzym A.

Sauerstoff verhindern und besitzen zudem Oxidasen, die eindringenden Sauerstoff reduzieren (Meeks und Elhai 2002). Einzellige Stickstoff fixierende Cyanobakterien wie *Cyanothece* sp. und *Crocospaera* sp. fixieren Stickstoff zeitlich getrennt von der Lichtreaktion der Photosynthese. Eine komplexe Kombination aus räumlicher und zeitlicher Trennung der Stickstofffixierung von der Lichtreaktion der Photosynthese weist das nicht Heterozysten bildende filamentöse Cyanobakterium *Trichodesmium* sp. auf (Berman-Frank et al. 2003). Rhizobien in Wurzelknöllchen der Leguminosen sind von einem Sauerstoff bindenden Häm-Protein umgeben, dem sogenannten Leghämoglobin, das äußerst effektiv den gesamten verfügbaren Sauerstoff bindet (Appleby 1984).

1.6 Cyanobakterien

Cyanobakterien entwickelten sich fossilen Funden zu Folge vor mehr als 3,5 Milliarden Jahren (Schopf, 1993). Viele Cyanobakterien leben im Süßwasser, es sind aber auch marin und terrestrisch lebende sowie cyanobakterielle Symbionten bekannt. Unter den Cyanobakterien gibt es einzellige, nicht Heterozysten bildende filamentöse und Heterocysten bildende filamentöse Formen (Reddy et al. 1993). Cyanobakterien sind photoautotroph und nutzen einen pflanzenähnlichen photosynthetischen Apparat mit zwei Photosystemen, Chlorophyll a und Phycobilisomen (Stanier und Cohen-Bazire 1977). Zudem betreiben einige Cyanobakterien die Fixierung molekularen Stickstoffs.

Cyanobakterien leben in Assoziation mit verschiedensten Organismen. Man findet Cyanobakterien in Symbiose mit Protisten, beispielsweise *Cyanothece* sp. in Symbiose mit der Diatomee *Climacodium frauenfeldianum*, mit Pflanzen, beispielsweise *Nostoc* sp. in Symbiose mit dem Mammutblatt *Gunnera* und mit Tieren, beispielsweise *Oscillatoria* sp. in Symbiose mit dem Schwamm *Dysidea* spp. (Carpenter und Janson 2000, Meeks und Elhai 2002, Thacker und Starnes 2003). Eine Besonderheit stellen Symbiosen zwischen Cyanobakterien und Pilzen dar, die zur Ausbildung von Flechten führen (Rai et al. 2000).

Dabei versorgen cyanobakterielle Symbionten ihre Wirte mit photosynthetischen und/oder diazotrophen Stoffwechselprodukten.

1.7 Diatomeen

Diatomeen (Kieselalgen) oder Bacillariophyta sind planktisch oder benthisch lebende einzellige phototrophe Eukaryoten. Viele Diatomeen leben marin oder limnisch und bilden dort jeweils einen wichtigen Bestandteil des Planktons, es sind aber auch einige terrestrisch lebende Arten bekannt.

Diatomeen gehören zu den Heterokontophyten, die in sekundärer Endozytobiose entstanden sind. Dabei wurde eine Rotalge durch einen phagotrophen Eukaryoten aufgenommen und zu einer von vier Membranen umgebenen sekundären Plastide reduziert (Stoebe und Maier 2002).

Ein Charakteristikum der Diatomeen ist ihre Schale aus Siliziumdioxid, die sogenannte Frustel. Die Frustel besteht aus zwei ineinander greifenden Schalen, der größeren oberen Epitheka und der kleineren unteren Hypotheka. Man unterscheidet Diatomeen aufgrund ihrer Schalensymmetrie in pennate Formen mit bilateraler Symmetrie und zentrale Formen mit radiärer Symmetrie. Viele pennate Diatomeen besitzen eine Raphe, die durch das Absondern eines Substrats das Gleiten auf einem festen Untergrund ermöglicht (Heintzelman 2006).

Die Plastiden der Diatomeen besitzen neben Chlorophyll a und c auch das Chromatophor Fucoxanthin, das ihnen ihre charakteristische bräunlich-gelbe Farbe verleiht.

Diatomeen sind diploid und vermehren sich vorwiegend durch Zellteilung. Dabei erhält jede Tochterzelle entweder die Hypo- oder die Epitheka und synthetisiert jeweils die Hypotheka neu, so dass die Zellen eines Teiles der Population immer kleiner werden. Dabei kann die Reduktion der Zellgröße 30 bis 50% betragen. Nach Erreichen einer Minimalgröße bilden sich haploide Gameten. Zwei Gameten verschmelzen zu einer Auxospore, die sich nach Größenzunahme zu einer von einer Frustel umgebenen Diatomee weiter entwickelt (Chepurnov et al. 2004).

1.8 *Rhopalodia gibba* und seine Sphäroidkörper

Rhopalodia gibba ist eine pennate Diatomee, die man in Süßwasserbiotopen auf dem Gewässergrund und an Wasserpflanzen findet. Sie gehört zur Familie der *Epithemiaceae* aus der Klasse der *Bacillariophyceae*. *Rhopalodia gibba* besitzt eine

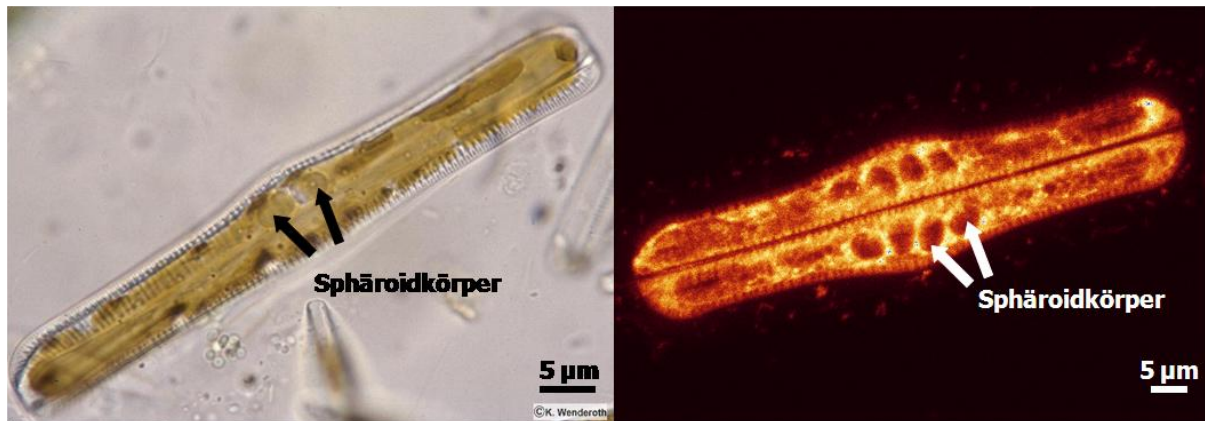


Abbildung 1-3: Licht- (links) und fluoreszenzmikroskopische (rechts) Aufnahme sich teilender *Rhopalodia gibba* Zellen (nach Kneip 2004).

Raphe, die ihr das Gleiten auf festem Untergrund ermöglicht. Die Größe einer *Rhopalodia gibba* Zelle variiert je nach Stadium der ungeschlechtlichen Fortpflanzung mit einer Länge von 40 bis 300 µm und einer Breite von 18 bis 30 µm. *Rhopalodia gibba* besitzt die für die Familie der *Epithemiaceae* als Sphäroidkörper bezeichneten typischen ovalen Zelleinschlüsse, die erstmals 1869 von Ernst Pfitzer beschrieben wurden (Abbildung 1-3; Klebahn 1896, Geitler 1977). Unter standardisierten Kulturbedingungen enthält eine *Rhopalodia gibba* Zelle ein bis zwei

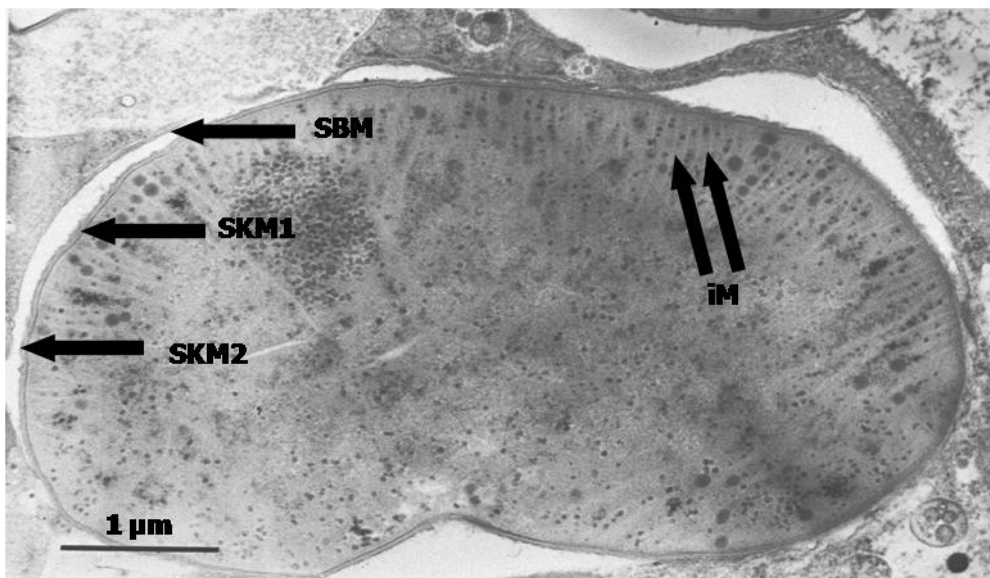


Abbildung 1-4: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Sphäroidkörpers (nach Prechtl et al. 2004). SBM: symbiontophore Membran, SKM1: innere Sphäroidkörpermembran, SKM2: äußere Sphäroidkörpermembran, iM: interne Membranen.

Sphäroidkörper, die in der Mitte der Zelle lokalisiert und meist 4 x 5 bis 6 x 7 µm groß sind (Drum und Pankratz 1965). Sphäroidkörper teilen sich unabhängig von der *Rhopalodia gibba* Zelle, allerdings wird mindestens ein Sphäroidkörper pro Zellteilung weitergegeben, so dass keine *Rhopalodia gibba* Zelle ohne Sphäroidkörper entsteht (Geitler 1977). Sphäroidkörper liegen im Cytoplasma der *Rhopalodia gibba* Zelle, getrennt vom Cytosol durch eine sogenannte symbiontophore Membran. Jeder Sphäroidkörper ist von einer Doppelmembran umgeben, zwischen beiden Membranen findet man eine dünne Schicht aus Peptidoglycan. Zudem besitzen Sphäroidkörper interne Membranstrukturen und entsprechen daher morphologisch Cyanobakterien (Abbildung 1-4; Drum und Pankratz 1965). Phylogenetische Analysen der Sphäroidkörper 16S rDNA bestätigten den cyanobakteriellen Ursprung der Sphäroidkörper, dabei wurde als nächster frei lebender Verwandter das diazotrophe Cyanobakterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142 bestimmt (Abbildung 1-5; Prechtel et al. 2004).

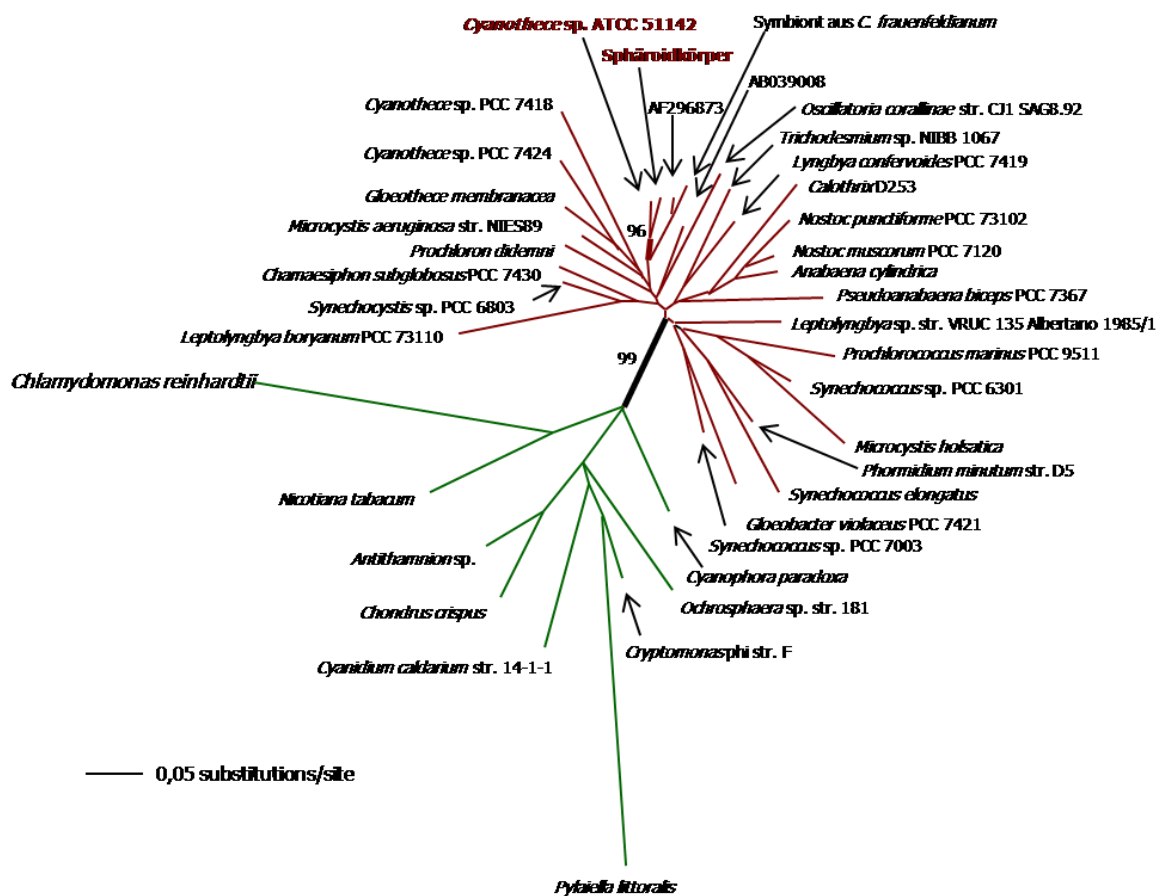


Abbildung 1-5: Minimum evolution Stammbaum verschiedener 16S rDNA Sequenzen (nach Prechtel et al. 2004). Astlängen und *bootstrap* Raten für relevante interne Äste sind angegeben, plastidäre und cyanobakterielle Sequenzen sind grün bzw. rot gekennzeichnet.

Trotz des cyanobakteriellen Ursprungs der Sphäroidkörper fehlt diesen die typische durch Farbstoffe der Photosynthese hervorgerufene Färbung. Erste Genomanalysen zeigten zudem das Fehlen eines Gens (*petJ*), das ein Protein des Photosyntheseapparats kodiert (Kneip et al. 2008). Beides lässt einen Verlust der photosynthetischen Aktivität der Sphäroidkörper vermuten.

Rhopalodia gibba kann, vermittelt durch die Sphäroidkörper, molekularen Stickstoff in der Lichtphase fixieren (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). Dabei enthält der Sphäroidkörper sowohl die den Nitrogenase-Komplex kodierenden *nif*-Gene als auch den für die Fixierung von molekularem Stickstoff nötigen Nitrogenase-Komplex selbst (Prechtel et al. 2004).

Die *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation ist die erste beschriebene obligate Endozytobiose zur Stickstofffixierung und dient damit zum einen als Modell zur Etablierung obligater Endosymbionten und liefert zum anderen Informationen über die Entstehung der Stickstofffixierung in Eukaryoten.

1.9 Zielsetzung

Bereits 1869 wurden von Ernst Pfitzer in *Rhopalodia gibba* sogenannte „sphäroidische Körperchen“ beobachtet (Klebahn 1896). Heute, rund 140 Jahre später, weiß man, dass es sich bei diesen Sphäroidkörpern um obligate bakterielle Endosymbionten handelt, die dem Gesamtorganismus die Möglichkeit zur Fixierung molekularen Stickstoffs eröffnen. Im Rahmen phylogenetischer Untersuchungen wurde das diazotrophe Cyanobakterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142 als nächster frei lebender Verwandter identifiziert (Pechtl et al. 2004).

Vor diesem Hintergrund sollen in dieser Arbeit vergleichende Sequenzanalysen der beiden Genome – Endosymbiont versus frei lebend – durchgeführt werden. Zu diesem Zweck sollen neue Sequenzdaten des Genoms der Sphäroidkörper generiert und diese unter anderem mit der bekannten Sequenz von *Cyanothece* sp. in Bezug auf Genverluste, A/T-Gehalt und Syntenie verglichen werden.

Während Sphäroidkörper molekularen Stickstoff in der Hellphase fixieren, wird dies von *Cyanothece* sp. ATCC 51142 ausschließlich in der Dunkelphase geleistet. *Northern Blot*-Analysen haben gezeigt, dass die Nitrogenase in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 transkriptionell reguliert wird (Colón-López et al. 1997). Hier soll daher die transkriptionelle Regulation der Stickstofffixierung in beiden Organismen mit Hilfe der quantitativen *Real Time*-PCR untersucht werden.

2 Ergebnisse

2.1 Analyse des Genoms der Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba*

Die Sphäroidkörper der Diatomee *Rhopalodia gibba* sind obligate Endosymbionten cyanobakteriellen Ursprungs, die dem Gesamtorganismus die Möglichkeit zur Fixierung molekularen Stickstoffs eröffnen (Pechtl et al. 2004, Kneip et al. 2008). Dabei ist insbesondere die Entwicklung der endosymbiontischen Genome in Folge der Koevolution geprägt von degenerativen Umstrukturierungen, dazu gehören unter anderem Genverluste, der Anstieg des A/T-Gehalts und die Reduktion der Genomgröße. Für die nähere Charakterisierung der *Rhopalodia gibba* – Sphäroidkörper Assoziation wurden im Rahmen dieser Arbeit Sequenzdaten des endosymbiontischen Genoms generiert und diese unter anderem mit der bekannten Sequenz des frei lebenden Cyanobakteriums *Cyanothece* sp. ATCC 51142 verglichen.

2.1.1 Identifizierung und Sequenzierung von Fosmiden mit Sphäroidkörper-DNA

Eine aus etwa 40 000 Klonen bestehende Fosmidbibliothek bildete die Grundlage für die Sequenzierung des Genoms der Sphäroidkörper. 4 200 Klone dieser Fosmidbibliothek wurden in 96-Loch-Mikrotiterplatten vereinzelt, die übrigen Klone sind in einem Pool zusammengefasst (Kneip et al. 2008). Um neue Sequenzinformationen zu generieren wurden drei voneinander unabhängige Strategien angewandt: 1. Das Screening nach Folgeklonen bereits vollständig sequenzierter Fosmide, 2. das Ansequenzieren der Fosmide im großen Maßstab und 3. das Screening nach Fosmiden, die bestimmte Gene kodieren. Für das Screening nach Folgeklonen wurden, basierend auf den Sequenzen des terminalen Bereichs bekannter Fosmide, Oligonukleotide synthetisiert (S5F5RE5' und S5F5rechts3', SK40A11RE5' und SK40A11RE3', SKKHright_uni und SKKHright_rev sowie SKKHleft_uni und SKKHleft_rev). Diese Oligonukleotide wurden dann in

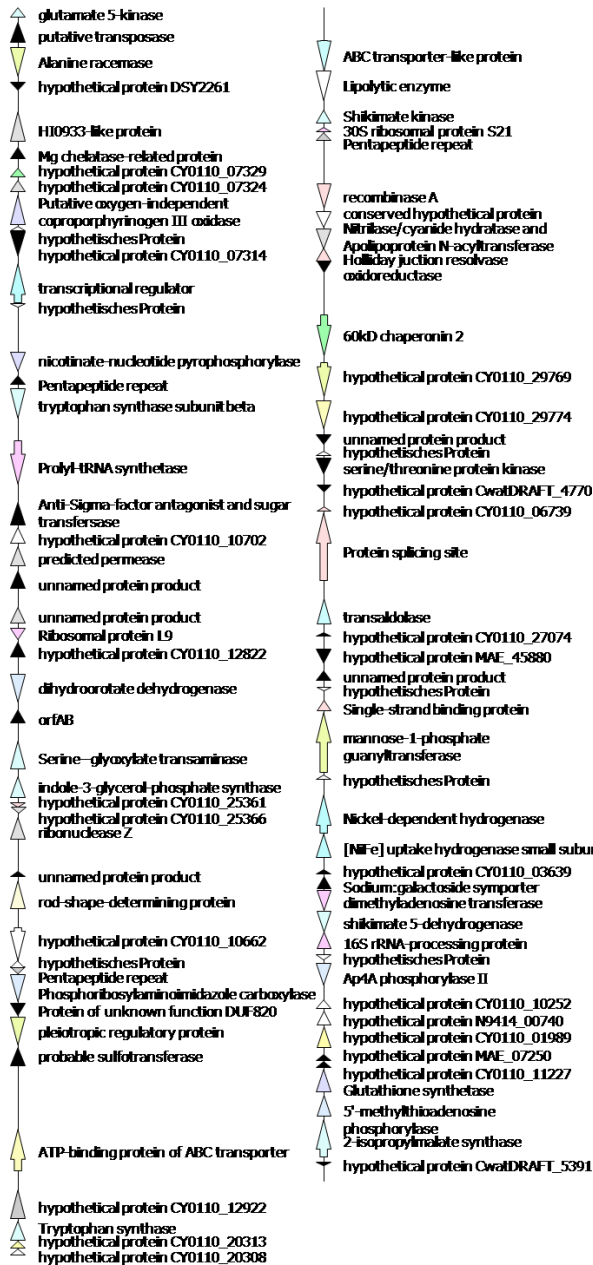
verschiedenen PCRs eingesetzt (Kapitel 5.13.1). Dabei wurden zunächst Pools der 96-Loch-Mikrotiterplatten mittels Kolonie-PCR und anschließender Agarosegelelektrophorese getestet (Kapitel 5.13.1 bzw. 5.14). Darauf, bei Synthese eines Produkts in der erwarteten Größe, wurden Pools der Reihen A bis H der entsprechenden 96-Loch-Mikrotiterplatte und schließlich die Klone eins bis zwölf einer Reihe der entsprechenden 96-Loch-Mikrotiterplatte getestet. Zusätzlich wurden Folgeklone mittels Koloniehybridisierung ermittelt (Kapitel 5.9). Das Ansequenzieren von 7 000 Fosmiden fand in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Dr. Richard Reinhardt am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin statt. Für das Screening nach Fosmiden, die bestimmte Gene kodieren, wurden zunächst degenerierte und im Anschluss spezifische Oligonukleotide synthetisiert (SKrecA_uni und SKrecA_rev, recFSKuni und recFSKrev, und groES_5' und groES_3' sowie GroESneu_5' und GroESneu_3'b). Diese wurden dem oben genannten Screening nach Folgeklonen entsprechend in verschiedenen PCRs eingesetzt (Kapitel 5.13.1). Von besonderem Interesse waren dabei die Gene *recA*, *recF*, *groEL* und *groES*. *RecA* und *recF* kodieren Proteine der DNA-Reparatur. Dabei ist RecA an der Reparatur von DNA-Einzel- und -Doppelstrangbrüchen im Zuge der homologen Rekombination beteiligt und spielt zudem eine wichtige Rolle bei der sogenannten SOS-Antwort (Kowalczykowski 2000, Cox 2007). RecF ist ein entscheidendes Protein der Reparatur von DNA-Einzelstrangbrüchen im Zuge der homologen Rekombination (Kogoma 1997). Das Screening nach *recA* und *recF* ist dabei im Zusammenhang mit der *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation besonders interessant, da neben weiteren Genen der DNA-Reparatur der Verlust von *recA* und *recF* ein generelles Merkmal vieler, zum Teil auch junger Endosymbiontengenome ist (Dale et al. 2003). GroEL und GroES bilden ein Chaperonin-System, das Proteine bei ihrer Faltung unterstützt. Man unterscheidet zwei verschiedene Formen von GroEL, dabei wird GroEL1 zusammen mit GroES in einem Operon kodiert. Im Zusammenhang mit der *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation kommt dem GroEL/GroES-Chaperonin-System vermutlich eine besondere Bedeutung zu. So wird es zum einen in den Endosymbionten der Blattlaus, *Buchnera aphidicola*, und anderen konstitutiv überexprimiert und weist zudem eine adaptive Evolution auf, die die Interaktion mit dem auf Grund zahlreicher Mutationen instabilen endosymbiontischen Proteom verbessert (Moran 1996, Fares et al. 2004). Zum anderen kennt man beide Formen von GroEL bisher nur aus photosynthetisch aktiven Pro- und Eukaryoten. So kodiert

beispielsweise *Plasmodium falciparum*, ein Erreger der Malaria, nur GroEL2 (Zauner et al. 2006). Ein Charakteristikum von *Plasmodium falciparum* ist seine degenerierte Plastide, die die Fähigkeit Photosynthese zu betreiben, verloren hat (Foth und McFadden 2003). Entsprechendes könnte auch für die Sphäroidkörper gelten, die ersten Analysen zu Folge photosynthetisch nicht mehr aktiv sind (Kneip et al. 2008).

Diesen drei Strategien folgend wurden SK5F5, SK8G11, SK11F6, SK12B6, SK32A5, SK40A11 und SK40G7 mittels Kolonie-PCR sowie SKKH3-1-C und SKKH26-C mittels Koloniehybridisierung identifiziert. Dabei kodiert SK12B6 neben *recA* auch *groEL2*, in SK40A11 findet man *recF* und SK32A5 weist das *groEL1/groES*-Operon auf. Zudem war bereits bekannt, dass SK5F5 die 16S rRNA des Sphäroidkörpers kodiert. Die identifizierten Folgeklone sind SK8G11 (von SK5F5), SKKH26-C (von SK40A11) SK40G7 und SKKH3-1-C (beide von SK12B6). Darüber hinaus wurden SK3B4, SK3B7, SK3E12, SK4B5, SK4D1, SK19D8, SK29A9, SK32H8, SK42B10 und SK42C10 ausgewählt. Grundlage war die Ansequenzierung der Fosmide im großen Maßstab. SK32H8 wurde dabei zusätzlich als Folgeklon des *Contigs* aus SK13A12, SK20A4 und SKKH5A identifiziert.

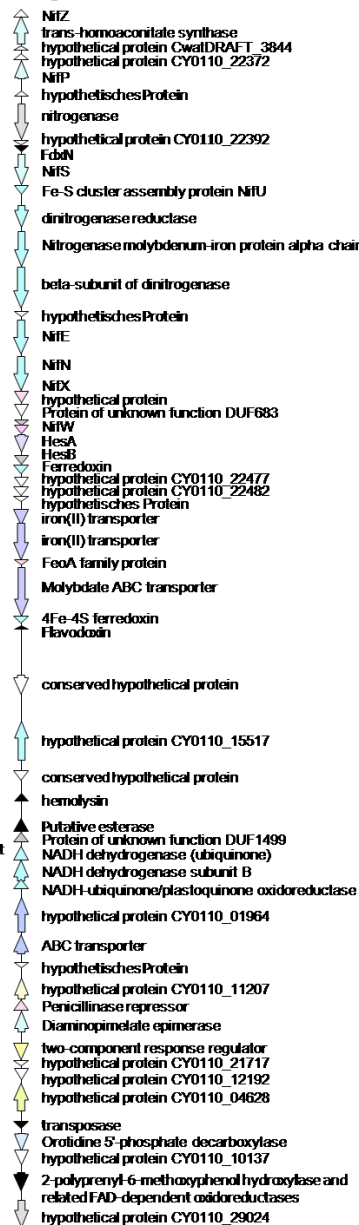
Für die vollständige Sequenzierung dieser Fosmide wurden zunächst *Shotgun*-Plasmidbibliotheken hergestellt (Kapitel 5.16). Davon wurden etwa 200 Plasmide mittels M13 uni und M13 rev beidseitig ansequenziert (Kapitel 5.17). Diese Sequenzen wurden im Anschluss zu *Contigs* zusammengefügt. Bestehende Lücken zwischen den *Contigs* wurden mittels spezifischer Primer in einer PCR geschlossen (Kapitel 5.13.1). Dabei wurden mehrere Primer in einer Multiplex-PCR eingesetzt oder verschiedenste Primer in verschiedenen PCR-Reaktionen miteinander kombiniert. Die PCR wurde im Anschluss mittels Agarosegelelektrophorese aufgetrennt, die Banden ausgeschnitten, eluiert, in *pGEM-T*[®] oder *pJET1.2/blunt* ligiert, in *XL1-blue MRF'* oder *TOP10 Escherichia coli* Zellen transformiert und nach Isolation der Plasmid-DNA sequenziert (Kapitel 5.14, 5.15, 5.8, 5.12.1.2 bzw. 5.17). Eine weitere Möglichkeit zum Lückenschluss stellte die direkte Sequenzierung der Fosmid-DNA mittels *Primerwalking* dar (Kapitel 5.17).

SK12B6, SK4067 und SKKH3-1-C

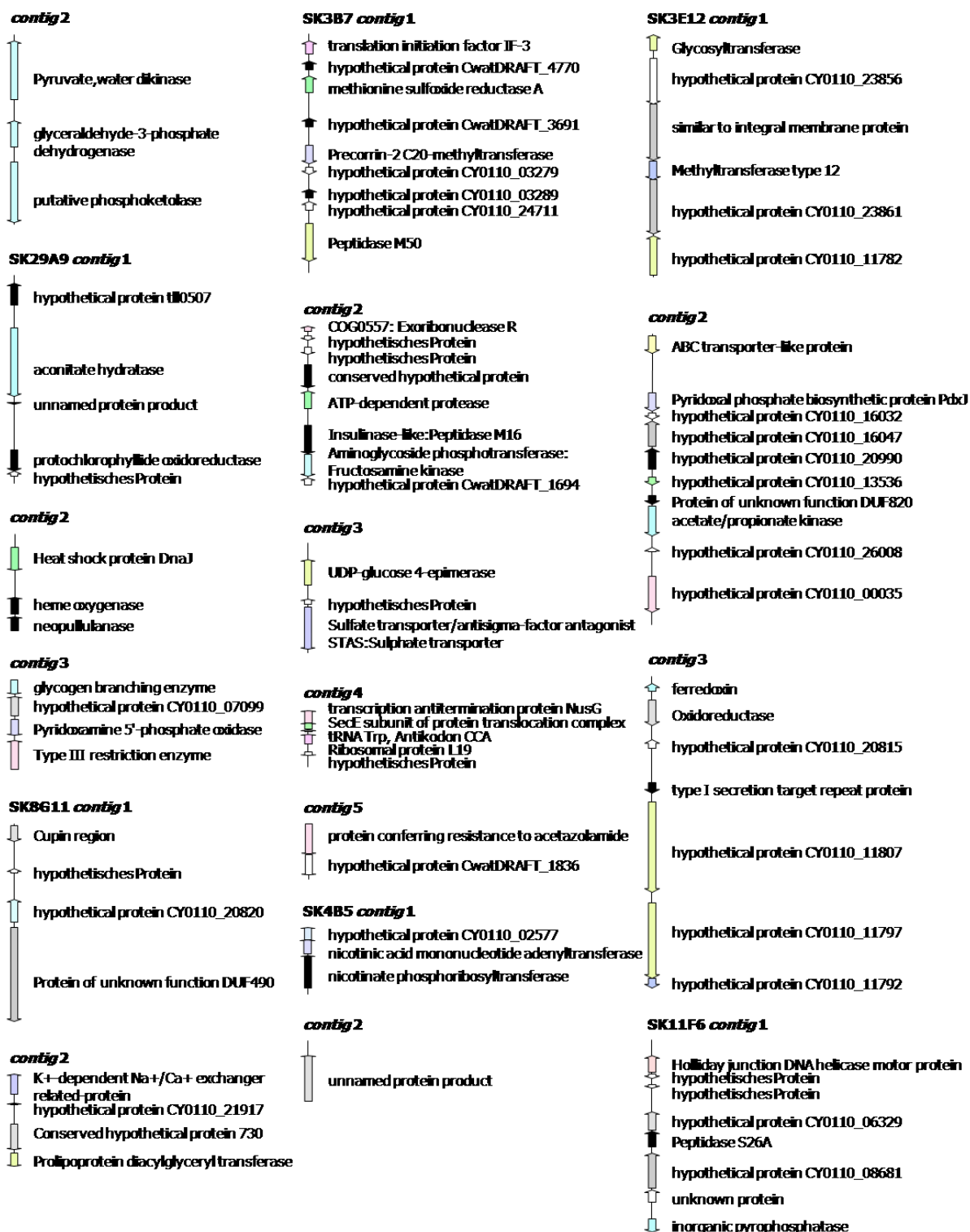


SK13A12, SK20A4, SK32H8 und SKKH5A

contig1







contig2

Conserved hypothetical protein Yfch
 Bvg accessory factor
 dihydroxy-acid dehydratase
 hypothetical protein CwatDRAFT_4009
 hypothetical protein CY0110_09390
 hypothetical protein CY0110_09385
 unnamed protein product
 cytochrome c oxidase subunit III

contig3

carboxypeptidase G2
 hypothetisches Protein
 aspartate kinase
 Phosphoglycerate mutase
 protein-export membrane protein
 Peptidase, metalloproteinase
 hypothetisches Protein
 hypothetical protein CwatDRAFT_2236

contig4

10 kDa chaperonin
 chaperonin GroEL
 hypothetisches Protein
 4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase

SK19D8 contig1

O-methyltransferase
 acetolactate synthase III large subunit
 unknown protein
 UDP-N-acetyl-D-mannosaminuronic acid transferase

contig2

hypothetical protein CY0110_29334
 hypothetisches Protein
 porphobilinogen deaminase
 Coproporphyrinogen oxidase

contig3

unnamed protein product
 HAD-superfamily hydrolase
 4Fe-4S cluster binding protein
 isopropylmalate isomerase small subunit
 Phosphoglycerate/bisphosphoglycerate mutase
 hypothetical protein CY0110_06259
 hypothetical protein CY0110_06254

contig4

Carotene 7,8-desaturase
 hypothetical protein slr0941
 Thiamine monophosphate synthase
 hypothetical protein CY0110_27059
 O-methyltransferase

contig5

hypothetical protein CY0110_28514
 hypothetisches Protein
 hypothetical protein CY0110_27934
 aspartate aminotransferase

SK4D1 contig1

7-cyano-7-deazaguanine reductase
 GAF:ATP-binding region
 hypothetical protein CY0110_17722
 hypothetical protein CwatDRAFT_3009
 hypothetical protein CwatDRAFT_1945
 tRNA His, Antikodon GTG
 hypothetical protein CwatDRAFT_4564
 polynucleotide phosphorylase/
 polyadenylase
 hypothetical protein CY0110_21445
 amino acid permease-associated region

contig2

hypothetical protein CY0110_28569
 Phosphate uptake regulator, PhoU
 methionine aminopeptidase
 ferredoxin-NADP oxidoreductase

contig3

Hydrogenase accessory protein HypB
 Hydrogenase expression/synthesis, HypA
 Alpha/beta hydrolase fold protein
 Two component Transcriptional regulator
 DNA mismatch repair protein
 unnamed protein product
 7-cyano-7-deazaguanine reductase

contig4

hypothetical protein N9414_03688
 MazG

contig5

Phosphatidate cytidyltransferase
 precomin-6B methylase
 queuine tRNA-ribosyltransferase

SK3B4 contig1

Polyphosphate kinase
 UDP-N-acetylmuramoylalanine-D-glutamate-2,6-diaminopimelate-D-alanine-D-alanine ligase
 hypothetical protein CwatDRAFT_4062
 hypothetical protein CY0110_11262

hypothetisches Protein
 Dihydropyrimidine synthase TIM-barrel protein nifR3

contig2

hypothetical protein CY0110_27505
 ABC transporter
 similar to Nucleoside diphosphate-sugar epimerases
 6-phosphogluconate dehydrogenase
 hypothetical protein CY0110_24206
 hypothetical protein CY0110_24216
 Gamma-glutamyl phosphate reductase GPR

contig3

gamma-glutamyltranspeptidase
 hypothetical protein CY0110_24196
 Na(+)-linked D-alanine glycine permease

contig4

CBS:Cl- channel
 inorganic polyphosphate/
 ATP-NAD kinase

contig5

hypothetical protein CwatDRAFT_2680
 hypothetical protein CY0110_27495
 ABC transporter

contig6

monophosphatase
 hypothetical protein CwatDRAFT_2493

SK32A5 contig1

hypothetical protein CY0110_25186
 hypothetical protein CY0110_11532
 high-affinity branched-chain amino acid transport permease protein
 Phenylalanyl-tRNA synthetase
 stationary phase survival protein SurE
 hypothetical protein CY0110_21515
 unnamed protein product



Abbildung 2-1-1: Karte der sequenzierten Fosmide SK12B6, SK40G7, SKKH3-1-C, SK13A12, SK20A4, SK32H8, SKKH5A, SK40A11, SKKH-26-C, SK5F5, SK29A9, SK8G11, SK3B7, SK4B5, SK3E12, SK11F6, SK19D8, SK4D1, SK3B4, SK32A5, SK42B10 und SK42C10.

2.1.2 Analyse des Genoms der Sphäroidkörper

Die Fosmide SK12B6, SK40A11, SK40G7, SK42C10, SKKH3-1-C und SKKH-26-C wurden vollständig sequenziert. Von den nicht vollständig sequenzierten Fosmiden SK3B4, SK3B7, SK3E12, SK4B5, SK4D1, SK5F5, SK8G11, SK11F6, SK19D8, SK29A9, SK32A5, SK32H8 und SK42B10 wurden in dieser Arbeit nur *Contigs* mit einer Größe von mindestens 2 000 bp berücksichtigt. Insgesamt wurden 519 567 bp sequenziert und zusammen mit den 51 475 bp der bereits untersuchten Fosmide SK13A12, SK20A4 und SKKH5A analysiert (Kneip et al. 2008).

Zunächst wurden mit Hilfe des Internet basierten Programms *ORF Finder* ORFs identifiziert. Als untere Ausschlussgrenze wurde dabei eine Kodierungskapazität von 50 Aminosäuren gewählt. Zudem wurden folgende Startkodons zugelassen: ATG, GTG, TTG, CTG, ATT, ATC, ATA und ACG (u. a. Kozak 1983, Spiers und Bergquist 1992, Polard et al. 1991). Die so ermittelten ORFs wurden im Anschluss mit Hilfe von *BLASTX* auf mögliche Homologien hin untersucht. Bereits bei diesem Schritt fiel auf, dass sich einige Alignments der identifizierten ORFs mit den putativen homologen Sequenzen aus den Datenbankeinträgen hinsichtlich ihrer Länge deutlich unterschieden. Eine anschließende Analyse der gesamten sequenzierten Bereiche mittels *BLASTX* (maximaler *e-value*: e^{-05}) oder der in Cyanobakterien konservierten Operons ergab weitere Hinweise auf das Vorhandensein von zahlreichen Pseudogenen. So wurden viele, durch Punktmutationen hervorgerufene interne Stoppkodons sowie durch Leserahmenwechsel fragmentierte Gene identifiziert. Insgesamt konnten so 108 unterschiedlich stark fragmentierte Pseudogene identifiziert werden (Abbildung 2-1-1). Dabei weisen 42 (39%) dieser Pseudogene als ersten Treffer der *BLASTX*-Analyse *Cyanothece* sp. auf (Tabelle im Anhang). Abschließend wurden die tRNA und rRNA kodierenden Bereiche mit Hilfe der Algorithmen *tRNAscan-SE* und *BLASTN* identifiziert (Lowe und Eddy 1997, Altschul et al. 1990).

Der durchschnittliche G/C-Gehalt der analysierten Bereiche des Genoms der Sphäroidkörper beträgt 35%. Insgesamt wurden 398 putativ Protein kodierende Sequenzen mit einer durchschnittlichen Größe von 851 bp identifiziert. Davon konnten 237 (60%) putative ORFs, basierend auf ihrer Homologie zu anderen bekannten Proteinen, Funktionen zugeordnet werden. 121 dieser ORFs wurde als

erster Treffer in der *BLASTX*-Analyse ein Protein aus *Cyanothece* sp. zugeordnet. 123 (31%) ORFs sind in einigen Bakterien konserviert, aber ihre Funktion ist nicht bekannt. Von diesen zeigen 92 als ersten Treffer in der *BLASTX*-Analyse *Cyanothece* sp. an. 38 (10%) ORFs zeigen keine Homologie zu Einträgen in der Datenbank (Abbildung 2-1-1, Tabelle im Anhang). Zusätzlich wurden im analysierten Bereich des Genoms der Sphäroidkörper vier tRNAs und ein 16S-23S-5S rRNA Operon identifiziert (Abbildung 2-1-1). Der kodierende Bereich macht nur 59% des Genoms der Sphäroidkörper aus. Die grundsätzlichen Charakteristika des Genoms der Sphäroidkörper sind in Tabelle 2-1-1 zusammengefasst.

Tabelle 2-1-1: Grundsätzliche Charakteristika des Genoms der Sphäroidkörper.

sequenziert (bp)	571 042
kodierend (%)	59
G/C-Gehalt gesamt (%)	35
G/C-Gehalt kodierend (%)	39
G/C-Gehalt nicht kodierend	30
ORFs	398
bekannte Funktion	237
konserviert hypothetisch	123
unbekannte Funktion	38
durchschnittliche ORF-Größe (bp)	851
Pseudogene	108
tRNA Gene	4
16S-23S-5S rRNA Operon	1

2.1.3 Nicht kodierende Regionen

Von der sequenzierten Sphäroidkörper-DNA entsprechen 59% kodierenden Regionen für Proteine, rRNAs und tRNAs. Der G/C-Gehalt der nicht kodierenden Regionen beträgt 30% und ist damit geringer als der G/C-Gehalt der kodierenden Regionen mit 39% (Tabelle 2-1-1). Die nicht kodierenden Regionen reichen von 1 bis 5 890 bp und variieren damit beträchtlich (Abbildung 2-1-1). 121 (36%) nicht kodierende Regionen sind größer als 500 bp, davon weisen 66 (56%) mindestens ein Pseudogen auf. Man findet auch Überschneidungen zwischen den Start- und Stoppkodons benachbarter Gene, diese reichen von -4 bis -37 bp.

2.1.4 Kodon- und Aminosäureverwendung

Der G/C-Gehalt der kodierenden Regionen beeinflusst die Kodon- und Aminosäureverwendung (Singer und Hickey 2000). Die Kodon- und

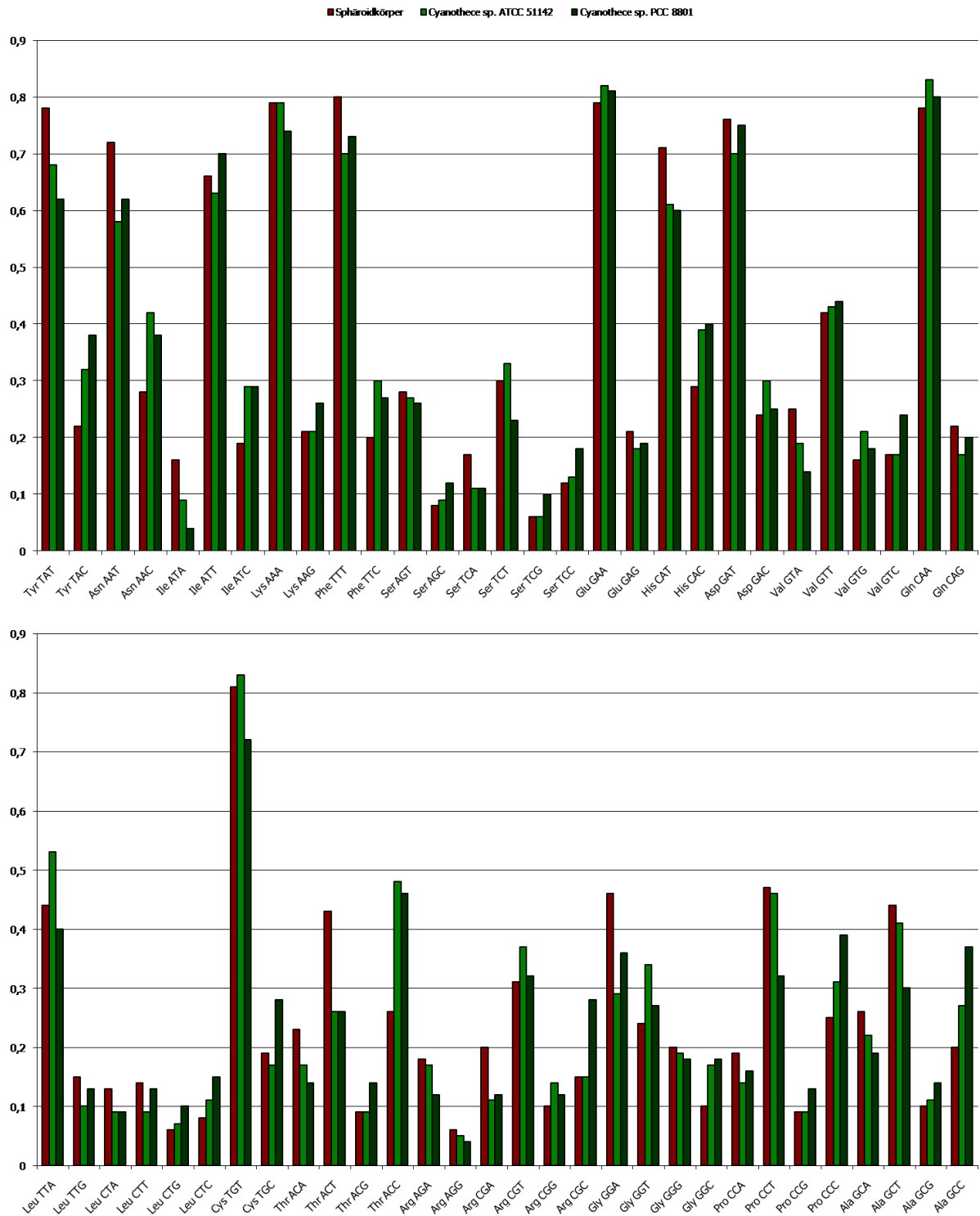


Abbildung 2-1-2: Relative Kodonverwendung der Sphäroidkörper, *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und *Cyanothece* sp. PCC 8801. Die Kodons sind ihrem G/C-Gehalt entsprechend angeordnet (von links oben nach rechts unten steigender G/C-Gehalt). Met und Trp, die beide nur von einem Kodon kodiert werden, wurden in dieser Analyse nicht berücksichtigt.

Aminosäureverwendung der Protein kodierenden Regionen des bereits sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper ist im Vergleich zu denen der Genome *Cyanothece* sp.

ATCC 51142 und *Cyanotherces* sp. PCC 8801 in Abbildung 2-1-2 bzw. 2-1-3 dargestellt. Dabei wurden die Daten der Kodon- und Aminosäureverwendung von *Cyanotherce* sp. ATCC 51142 und *Cyanotherce* sp. PCC 8801 der *Codon Usage Database* entnommen (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>, Kazusa DNA Research Institute, Kisarazu, Japan). Das Genom der Sphäroidkörper unterscheidet sich dabei in beiden Punkten kaum von den Genomen seiner frei lebenden Verwandten, bevorzugt aber in der Regel dennoch Kodons mit hohem A/T-Gehalt. So wird beispielsweise bei den Aminosäuren Tyrosin, Asparagin und Phenylalanin eindeutig das A/T-reichere Kodon bevorzugt (Abbildung 2-1-2). Dabei fällt auf, dass alle von zwei Kodons kodierten Aminosäuren mit C oder T bzw. U an der dritten Stelle eines Kodons in der Regel T bzw. U bevorzugen. Ausnahmen stellen die Aminosäuren Aspartat und Cystein dar. Dabei unterscheidet sich die Verwendung von Aspartat in den Sphäroidkörpern und *Cyanotherce* sp. 8801 kaum. Vergleicht man die Sphäroidkörper hingegen nur mit *Cyanotherce* sp. ATCC 51142, fällt auch hier wieder auf, dass T bzw. U der Vorrang gegeben wird. Entsprechendes gilt für die Aminosäure Cystein, die zu etwa gleichen Teilen in den Sphäroidkörpern und *Cyanotherce* sp.

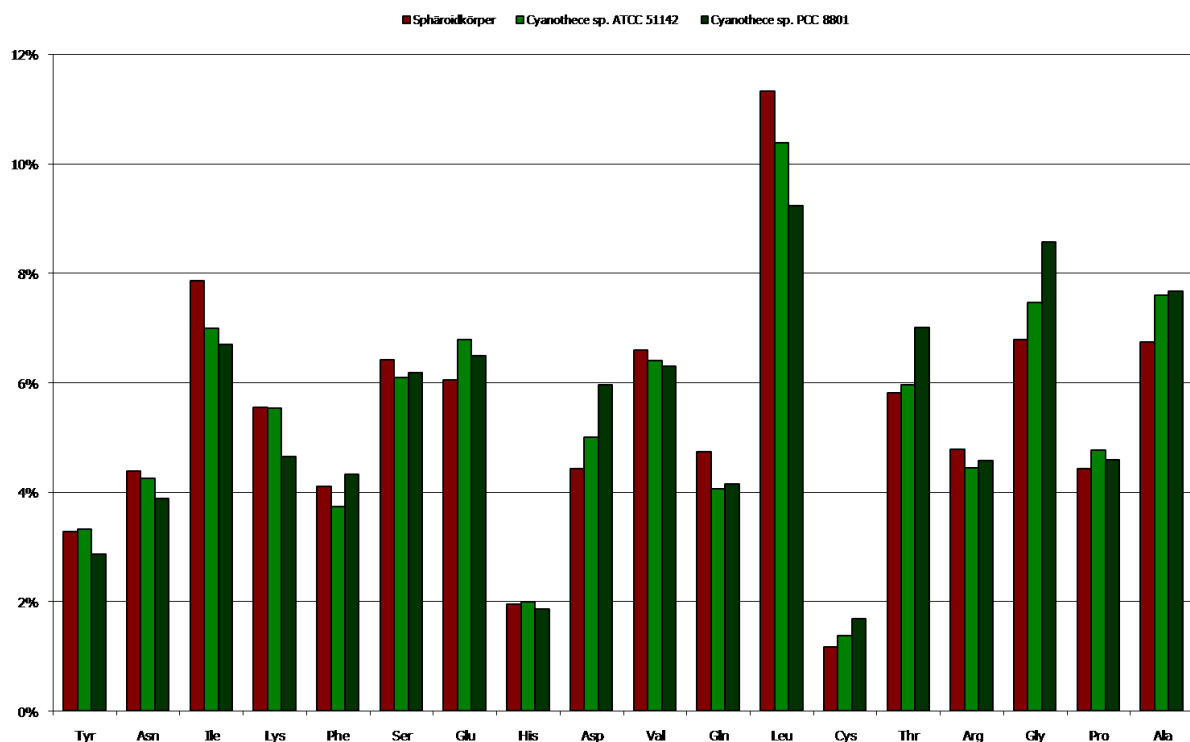


Abbildung 2-1-3: Relative Aminosäureverwendung der Sphäroidkörper, *Cyanotherces* sp. ATCC 51142 und *Cyanotherces* sp. PCC 8801. Die Aminosäuren sind dem G/C-Gehalt ihrer zugehörigen Kodonfamilie entsprechend angeordnet (von links nach rechts steigender G/C-Gehalt). Met und Trp, die beide nur von einem Kodon kodiert werden, wurden in dieser Analyse nicht berücksichtigt.

ATCC 51142 verwendet wird. Vergleicht man die Sphäroidkörper in diesem Fall nur mit *Cyanothece* sp. 8801, fällt auch hier die bevorzugte Verwendung von T bzw. U auf. Im Gegensatz dazu wird bei allen von zwei Kodons kodierten Aminosäuren mit G oder A an der dritten Stelle eines Kodons im Vergleich zu *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und *Cyanothece* sp. PCC 8801 in der Regel nicht dem A/T-reicheren Kodon der Vorrang gegeben. Das gilt beispielsweise für die Aminosäuren Glutamat und Glutamin.

Die Aminosäureverwendung der Sphäroidkörper unterscheidet sich kaum von der seiner frei lebenden Verwandten (Abbildung 2-1-3). Dennoch verwenden die Sphäroidkörper tendenziell eher Aminosäuren, die von A/T-reichen Kodons kodiert werden. Besonders deutlich wird dies am Beispiel der Aminosäure Isoleucin, die von AT(T/C/A) kodiert wird. Darüber hinaus verwenden die Sphäroidkörper weniger saure oder negativ geladene Aminosäuren (Aspartat und Glutamat) als *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und *Cyanothece* sp. PCC 8801. Die Verwendung basischer oder positiv geladener Aminosäuren (Lysin, Arginin und Histidin) unterscheidet sich im Gegensatz dazu kaum.

2.1.5 Metabolisches Potential der Sphäroidkörper

Die putativen Proteine der Sphäroidkörper wurden in funktionelle Kategorien orthologer Proteine, sogenannte COGs, klassifiziert und mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 verglichen (Abbildung 2-1-4; Tatusov et al. 2001). Grundlage war die Homologiesuche mittels *BLASTX* gegen funktionelle Gruppen orthologer Proteine, dabei wurde, im Falle von mehreren unterschiedlichen Zuordnungen jeweils nur die erste genannte Kategorie berücksichtigt. Dabei fiel auf, dass auch einige der hypothetischen Proteine einer funktionellen Kategorie entsprachen.

Die relative Häufigkeit der funktionellen Kategorien verdeutlicht, dass sich die Sphäroidkörper und ihr nächster frei lebender Verwandter *Cyanothece* sp. ATCC 51142 in ihrem Leistungsvermögen bereits deutlich unterscheiden (Abbildung 2-1-4). Dies geht insbesondere aus den Kategorien *Nucleotide transport and metabolism*, *Energy production and conversion*, *Lipid transport and metabolism*, *Amino acid transport and metabolism*, *Cell motility* und *Signal transduction mechanism* hervor. In diesen Kategorien ist ein deutlicher Unterschied in der prozentualen Verteilung

der putativ aktiven, auf dem Genom der Sphäroidkörper kodierten Proteine im Vergleich zu denen des Cyanobakteriums *Cyanothece* sp. ATCC 51142 zu erkennen. Dabei darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass bis dato nur ein Teil des Genoms der Sphäroidkörper sequenziert wurde. Auffällig ist auch, dass die Kategorien des Metabolismus in den Sphäroidkörpern in der Regel überrepräsentiert, die Kategorien der Informationsverarbeitung und der zellulären Prozesse im Gegensatz dazu eher unterrepräsentiert sind. Eine Tabelle aller funktionellen Kategorien der bereits analysierten putativ aktiven und pseudogenisierten Gene der Sphäroidkörper ist im Anhang zu finden.

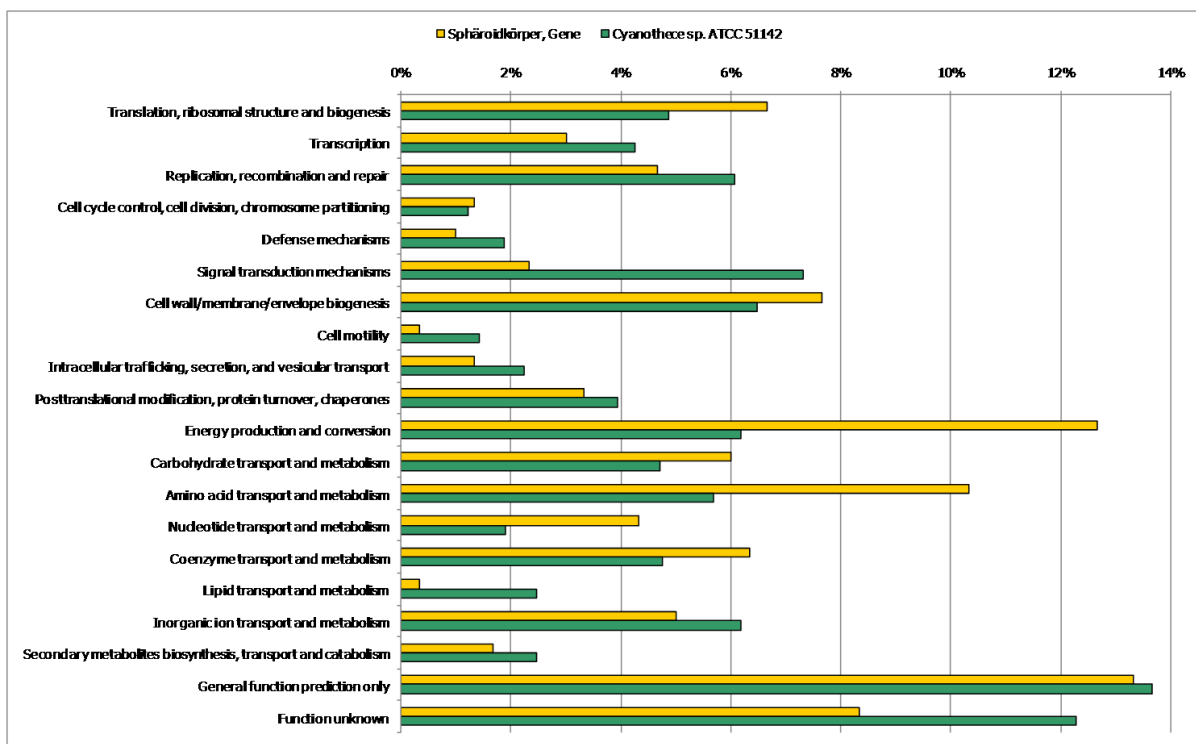


Abbildung 2-1-4: Relativer Anteil an putativ aktiven Genen der funktionellen Kategorien der Sphäroidkörper und *Cyanothece* sp. ATCC 51142.

Neben intakten ORFs, die für putativ aktive Proteine kodieren, konnten auch zahlreiche Pseudogene identifiziert werden. 80% dieser Pseudogene konnten, basierend auf ihrer Sequenzhomologie zu Genen, deren Genprodukte bekannte putative Funktionen haben, einer funktionellen Kategorie zugeordnet werden. Die drei COGs mit einem hohen Anteil an Pseudogenen (bezogen auf die putativ aktiven Genprodukte) sind *Cell motility*, *Replication, recombination and repair* und *Lipid transport and metabolism*. Keine Pseudogene wurden den Kategorien *Transcription*, *Translation, ribosomal structure and biogenesis*, *Cell cycle control, cell division*,

chromosome partitioning, *Defense mechanism* und *Nucleotide transport and metabolism* zugeordnet (Abbildung 2-1-5). Dabei ist erneut zu berücksichtigen, dass bis dato nur ein Teil des Genoms der Sphäroidkörper sequenziert wurde. Damit sind die absoluten Zahlen in einigen Fällen sehr gering. Das gilt beispielsweise für die Kategorie *Cell motility*, die nur zwei Gene umfasst.

Ohne die Kategorien *General function prediction only* und *Function unknown* zu berücksichtigen, wurden zahlreiche putativ aktive Proteine der Sphäroidkörper den Kategorien *Energy production and conversion* (13%), *Amino acid transport and metabolism* (10%) und *Cell wall/membrane/envelope biogenesis* (8%) zugeordnet, die damit einen großen Teil des bereits analysierten Proteoms der Sphäroidkörper umfassen (Abbildung 2-1-4).

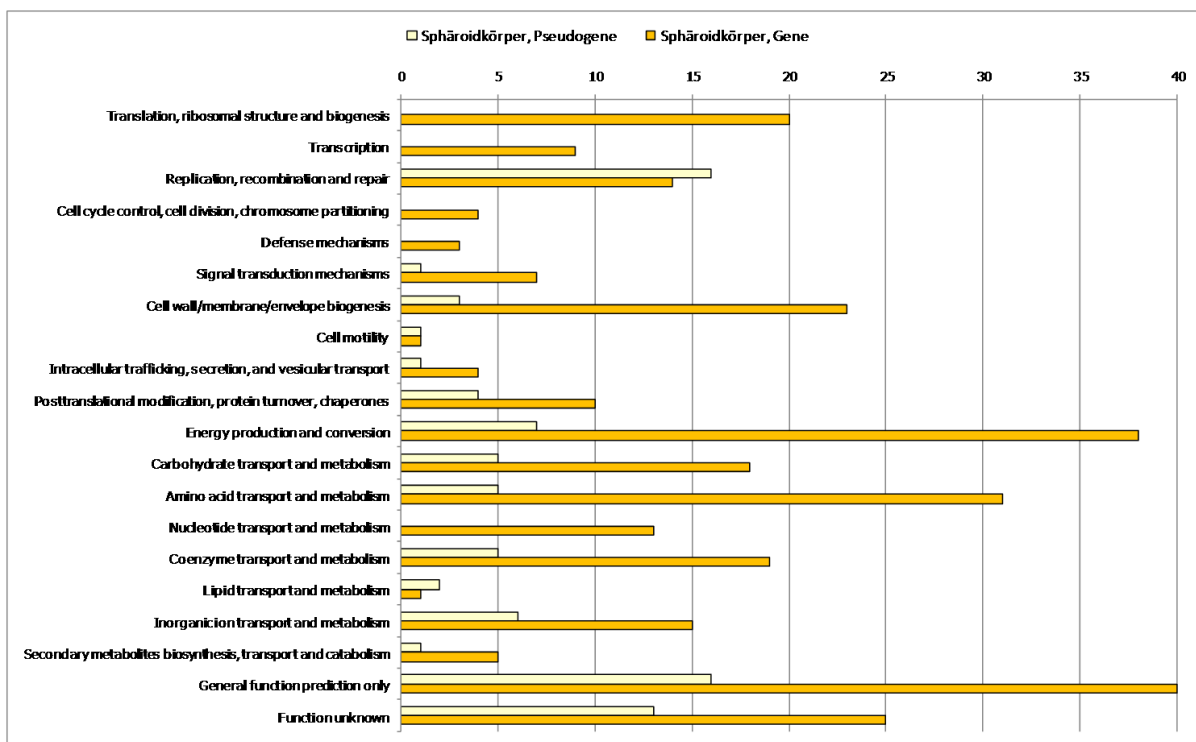


Abbildung 2-1-5: Absoluter Anteil an Genen und Pseudogenen der funktionellen Kategorien der Sphäroidkörper.

Im Folgenden werden die funktionellen Kategorien und Stoffwechselwege der Sphäroidkörper, insbesondere im Zusammenhang mit der Entwicklung des endosymbiontischen Genoms in Folge der Koevolution, genauer analysiert:

Energy production and conversion

Zahlreiche putative Proteine der Kategorie *Energy production and conversion* übernehmen Funktionen der Zellatmung, genauer der oxidativen Phosphorylierung und des Citratzyklus. Putative Proteine, die der oxidativen Phosphorylierung zugeordnet wurden, sind solche der ATP-Synthase und der NADH-Ubichinon-Oxidoreductase. Zudem wurden zwei Operons identifiziert, die die Proteine der Cytochrom-Oxidase kodieren. Auffällig ist auch, dass mit der *COG1008: NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 4* ein putatives Pseudogen identifiziert wurde. Dieses kodierte eine NADH Dehydrogenase der NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase. Nichtsdestotrotz beinhaltet die Kategorie *Energy production and conversion* mit der *FAD-depended pyridine nukleotide-disulphide oxidoreductase* eine putativ funktionelle NADH Dehydrogenase. Im Zusammenhang mit der Zellatmung sind auch die putativen Proteine der Glycolyse und des Pentosephosphatwegs zu nennen, die der Kategorie *Carbohydrate transport and metabolism* zugeordnet wurden. Zusätzlich wurden in der Kategorie *Energy production and conversion* putative Pseudogene identifiziert, die Proteine der Milchsäuregärung kodierten. Dazu gehören die *Glycolate oxidase subunit GlcD*, eine Lactat-Dehydrogenase, die Pyruvat zu Lactat reduziert und das *hypothetical protein DSY2261*, eine Lactat-Permease, die am Transport von Lactat beteiligt ist. Insgesamt sind 16% (7) aller Gene, die der Kategorie *Energy production and conversion* zugeordnet wurden, pseudogenisiert (Abbildung 2-1-5). Nicht zu vergessen bleibt, dass 10% aller putativen Proteine dieser Kategorie Funktionen der biologischen Stickstofffixierung übernehmen.

Amino acid transport and metabolism

Ein Großteil der putativ aktiven Proteine, die der Kategorie *Amino acid transport and metabolism* zugeordnet wurden, nehmen Funktionen im Zusammenhang mit der Biosynthese verschiedenster Aminosäuren ein, zu nennen sind hier die Aminosäuren Aspartat, Cystein, Tyrosin, Histidin, Isoleucin und Valin. Proteine der Biosynthese von Alanin, Glutamin, Glutamat, Glycin, Prolin, Arginin und Methionin fehlen im bisher sequenzierten Genom der Sphäroidkörper. Auffällig ist auch, dass 14% (5) aller Gene dieser Kategorie pseudogenisiert sind (Abbildung 2-1-5).

Cell wall/membrane/envelope biogenesis

In der Kategorie *Cell wall/membrane/envelope biogenesis* wurden zahlreiche putativ aktive Proteine, die im Zusammenhang mit der Synthese bakteriellem Peptidoglycans zu nennen sind, beispielsweise die *UDP-N-acetylmuramoylalanyl-D-glutamyl-2, 6-diaminopimelate--D-alanyl-D-alanine ligase*, identifiziert. 12% (3) Gene dieser Kategorie sind pseudogenisiert (Abbildung 2-1-5). Zwei dieser Pseudogene zeigen Homologien zu den Proteinen *GDP-D-mannose dehydratase* und *3-beta hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase*, die ursprünglich die Reaktion der GDP-D-Mannose über die GDP-4-oxo-6-deoxy-D-Mannose bis hin zur GDP-L-Fucose synthetisierten. Dabei ist letztere ein Bestandteil der Lipopolysaccharidschicht, einem Charakteristikum der Zellwände gramnegativer Bakterien.

Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport

Bisher wurde nur 1% aller identifizierten putativ aktiven Proteine der Sphäroidkörper der Kategorie *Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport* zugeordnet (Abbildung 2-1-4). Das einzige bisher identifizierte Pseudogen dieser Kategorie kodierte ein *hypothetical protein CYO110_08031* (Abbildung 2-1-5). Dies ist von besonderem Interesse, da es als großes Exoprotein vermutlich eine Funktion im Zusammenhang mit Adhäsionen übernahm.

Photosynthese

Der Analyse des endosymbiontischen Genoms der Diatomee *Rhopalodia gibba* im Rahmen dieser Arbeit folgend beinhaltet dieses keine putativ aktiven, sondern nur pseudogenisierte oder deletierte Gene, die im Zusammenhang mit der Photosynthese zu nennen sind. Dabei wurden das *photosystem II extrinsic protein*, das *photosystem II CP43 protein*, das *photosystem II D2 protein*, die *protochlorophyllide oxidoreductase*, die *CobN/magnesium chelatase*, die *ferredoxin-NADP oxidoreductase* und *Ycf37* als Pseudogene identifiziert. Die *CobN/magnesium chelatase* wurde der Kategorie *Coenzyme transport and metabolism*, die *protochlorophyllide oxidoreductase* der Kategorie *Lipid transport and metabolism* und die *ferredoxin-NADP oxidoreductase* der Kategorie *Inorganic ion transport and metabolism* zugeordnet. Das *photosystem II extrinsic protein*, das *photosystem II*

CP43 protein und das *photosystem II D2 protein* wurden keiner funktionellen Kategorie zugeordnet, für *Ycf37* wurde nur eine generelle Funktion vorhergesagt. Einem Alignment mit dem Genom *Cyanothece* sp. CCY 0110 und einem Alignment mit dem Genom *Cyanothece* sp. ATCC 51142 folgend, fehlen den Sphäroidkörpern das putative Plastidenprotein *Ycf34* bzw. das von *petJ* kodierte Protein Cytochrom *c6* (Kapitel 2.1.6; Kneip et al. 2008). Insgesamt fällt auf, dass nur *Ycf37* als *Photosystem I assembly protein* dem Photosystem I zugeordnet werden kann. Das *Photosystem II extrinsic protein*, das *photosystem II CP43 protein* und das *photosystem II D2 protein* sind allesamt Proteine des Photosystems II, die *protochlorophyllide oxidoreductase* und die *CobN/magnesium chelatase* sind als Enzyme an der Synthese von Chlorophyll a und b beteiligt und die *ferredoxin-NADP oxidoreductase* ist ein Protein des photosynthetischen Elektronentransports.

Signal transduction mechanism

Der Kategorie *Signal transduction mechanism* der Sphäroidkörper wurden, verschiedene putativ aktiven Proteine, aber auch ein pseudogenisiertes Gen zugeordnet (Abbildung 2-1-5). Auf Seiten der putativ aktiven Proteine sind dabei GTPasen, Proteine des Zwei-Komponenten-Systems und Kinasen zu nennen. Das einzige bis dato identifizierte Pseudogen dieser Kategorie kodierte einen Anti-Sigma-Faktor.

Transcription

Als Charakteristikum der Kategorie *Transcription* der Endosymbionten *Rhopalodia gibbas*, ist die Zuordnung zahlreicher transkriptioneller Regulatoren zu nennen.

Replication, recombination and repair

Das bis dato sequenzierte Genom der Sphäroidkörper kodiert verschiedenste DNA-Reparaturproteine, die der Kategorie *Replication, recombination and repair* zugeordnet wurden. Zu nennen sind unter anderem RecA, RecF und RecO (Abbildung 2-1-6). Diese reparieren DNA-Einzel- und Doppelstrangbrüche mittels homologer Rekombination. Putativ aktive Proteine der Exzisions- (z. B. Excinuclease

ABC) und Mismatch-Reparatur (z. B. *DNA mismatch repair protein*) wurden auch identifiziert.



Abbildung 2-1-6: Alignments von RecA und RecF mit Homologen der Sphäroidkörper (SK) und *Cyanobacteres* sp. ATCC 51142 (CY).

Mit 53% (16) ist mehr als die Hälfte aller Proteine, die der Kategorie *Replication, recombination and repair* zugeordnet wurden, pseudogenisiert (Abbildung 2-1-5). Diese Pseudogene kodierten allesamt Transposasen. Dennoch weist diese Kategorie auch eine putativ aktive Transposase auf.

Posttranslational modification, protein turnover, chaperones

Eine besondere Bedeutung bei der Etablierung eines endosymbiontischen Lebensstils kommt dem GroEL/GroES-Chaperonin-System zu. Dieses wurde der Kategorie *Posttranslational modification, protein turnover, chaperones* zugeordnet. Dabei kodiert das Genom der Sphäroidkörper GroES und beide Formen von GroEL, GroEL1 und 2.

Die Kategorie *Posttranslational modification, protein turnover, chaperones* umfasst auch verschiedene Proteasen (z. B. ClpP) und ein Chaperon (DnaJ). Beide liegen nicht nur als putativ aktive, sondern auch als pseudogenisierte Gene vor.

Koenzym B₁₂

Proteine, die eine Funktion im Zusammenhang mit der Koenzym B₁₂-Synthese einnehmen, wurden der Kategorie *Coenzyme transport and metabolism* zugeordnet. Dabei sind nicht nur die putativ aktiven Proteine, die *porphobilinogen deaminase*, die *Precorrin-2 C₂₀-methyltransferase* und die *adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase* zu nennen, sondern auch pseudogenisierte Gene, in diesem Fall die *precorrin-8X methylmutase* und die *CobN/magnesium chelatase*. Letzteres wurde schon als Protein der Photosynthese vorgestellt.

Cell motility

Der Kategorie *Cell motility* wurden nur zwei Gene zugeordnet. Dabei ist eines dieser Gene, die beide einem *Methyl-accepting chemotaxis protein* entsprechen, putativ pseudogenisiert (Abbildung 2-1-5).

Defense mechanism

Die Kategorie *Defense mechanism* umfasst nur 1% aller bisher identifizierten putativ aktiven Proteine der Sphäroidkörper, (Abbildung 2-1-4). Im Gegensatz dazu wurden 2% aller putativ aktiven Proteine *Cyanotheces* sp. ATCC 51142 dieser Kategorie zugeordnet. Einige putativ aktive Proteine dieser Kategorie vermitteln *multidrug resistance*.

Nucleotide transport and metabolism

Die Kategorie *Nucleotide transport and metabolism* der Sphäroidkörper beinhaltet zahlreiche putativ aktive Proteine, die im Zusammenhang mit der Biosynthese von Nukleotiden zu nennen sind.

2.1.6 Pseudogene im Genom der Sphäroidkörper

Das bis dato sequenzierte Genom der Sphäroidkörper umfasst 108 Pseudogene. Pseudogene sind auf Grund einer Anhäufung verschiedenster Mutationen, verglichen mit ihren entsprechenden funktionellen Homologen, inaktiviert und werden durch Substitutionen, Insertionen oder Deletionen einzelner Nukleotide oder großer DNA-Abschnitte sowie durch die Aufnahme von IS-Elementen gebildet (Toh et al. 2006). Der Großteil der im Genom der Sphäroidkörper identifizierten Pseudogene lässt sich auf Punktmutationen zurückführen. Diese haben Stoppkodons hervorgerufen oder hatten einen Leserasterwechsel zur Folge. Dabei sind die im Genom der Sphäroidkörper identifizierten Pseudogene in bis zu 17, das Gros in mehr als sieben Fragmente zerfallen. Auffällig ist auch, dass zahlreichen Pseudogenen im Vergleich zu den ORFs ihres funktionellen Homologs die Deletion eines größeren DNA-Abschnitts zu eigen ist, der in einigen Fällen mehr als die Hälfte ihres funktionellen Homologs ausmacht.

Einige Loci im Genom der Sphäroidkörper mit funktionellen Homologen anderer Organismen wurden auf Grund einer einzigen Mutation in zwei Fragmente zerteilt. Diese Loci wurden nur dann als Pseudogene betrachtet, wenn sie weniger als die Hälfte ihres funktionellen Homologs umfassten. Danach wurden Loci mit einem der zugelassenen Startkodons und einer Größe, die mindestens 50% der funktionellen Homologen entsprach, bei gleichzeitigem Fehlen weiterer Homologien in den flankierenden Regionen, als putativ intakte Gene interpretiert. Loci, die weniger als die Hälfte ihres funktionellen Homologs umfassten, wurden grundsätzlich als Pseudogene betrachtet. So ist nicht auszuschließen, dass einige dieser ORFs Pseudogene darstellen und damit kein funktionelles Genprodukt liefern. Auch sind einige der identifizierten Pseudogene auf Grund eines translationalen Leserasterwechsels und/oder transkriptionellem *Slippages* unter Umständen funktionell (Larsen et al. 2000). Das betrifft insbesondere Pseudogene, die kaum verkürzt und nur wenig fragmentiert sind. Um die genaue Zusammensetzung des

endosymbiontischen Proteoms *Rhopalodia gibbas* zu bestimmen, sind letztlich weitere Studien nötig.

Der G/C-Gehalt der bisher im Genom der Sphäroidkörper identifizierten Pseudogene beträgt 34%.

Die Syntenie, also die Gemeinsamkeit in der Reihenfolge von Genen ist zwischen Endosymbionten der gleichen Gattung meist sehr gut, zwischen Endosymbionten und ihren frei lebenden Verwandten dagegen in der Regel weniger gut konserviert (Tamas et al. 2002, Belda et al. 2005, Degnan et al. 2005). Im Gegensatz dazu weisen Operons oft gleiche Arrangements auf (Casjens 1998). So findet man auch im Genom der Sphäroidkörper verschiedene Operons mit einer, anderen Cyanobakterien entsprechenden Anordnung, in der Pseudogene fehlen. Dazu gehören neben den beiden Cytochrom-Oxidase Operons, beispielsweise auch die Operons der ATP-Synthase, der Nickel-Eisen-Hydrogenase und die einiger ABC Transporter. Zudem wurden zahlreiche kurze DNA-Abschnitte identifiziert, die Syntenie aufweisen. Ihnen galt neben den Operons ein besonderes Interesse, da ihre Analyse einen Weg aufzeigt, neben den pseudogenisierten auch fehlende Gene zu identifizieren. Das ist besonders im Fall des nicht in seiner Gänze sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper von Bedeutung. Die DNA-Abschnitte, die Syntenie aufwiesen, wurden als *GATA plot* dargestellt. Einige dieser *GATA plots* zeigt Abbildung 2-1-7. Dabei fällt auf, dass manche Pseudogene innerhalb dieser DNA-Abschnitte als partiell degradierte Sequenz erhalten bleiben. So gibt es Pseudogene mit eindeutiger Homologie zu dem entsprechenden Gen in *Cyanothece* sp. CCY 0110 (z. B. *Short-chain dehydrogenase/reductase SDR*). Daneben wurden sowohl kaum als auch stark verkürzten Sequenzen ohne erkennbare Sequenzhomologie identifiziert. Das gilt beispielsweise für die Regionen zwischen *CY0110_24206* und *CY0110_24216* sowie zwischen der *6-phosphogluconate dehydrogenase* und der *adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase*, die im Vergleich zu *Cyanothece* sp. CCY 0110 kaum verkürzt sind. Im Gegensatz dazu ist die Region zwischen der *adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-*

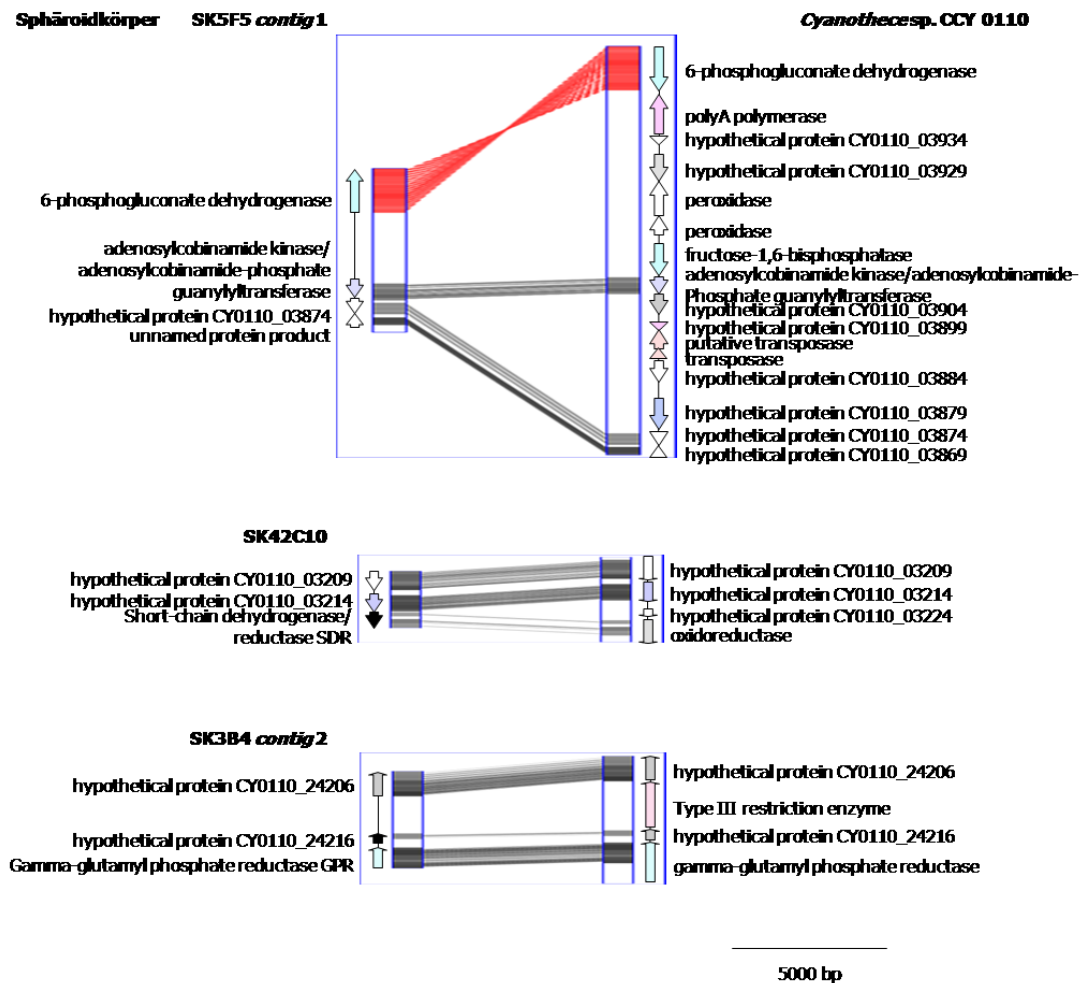


Abbildung 2-1-7: Vergleich ausgewählter Regionen des Genoms der Sphäroidkörper mit korrespondierenden Abschnitten des Genoms *Cyanothece* sp. CCY 0110. Die Farben, die die putativen ORFs und Pseudogene kennzeichnen, entsprechen denen aus Abbildung 2-1-1. Ein *GATA plot* zeigt die Regionen mit Syntenie zwischen beiden Organismen an (Nix und Eisen 2005). Die Voreinstellung des *GATAligner* war *Window size*: 100, *Match*: 5, *MisMatch*: -4, *Gap Creation*: -10, *Gap Extension*: -4, *Raw Score Cut Off*: 80, die des *GATA-Plotter* Max: 141 bits, Min: 46,8 bits.

phosphate guanylyltransferase und *CY0110_03874* eindeutig reduziert. Als Charakteristikum der verkürzten Regionen sind nicht nur Pseudogene, sondern auch die deletierten Gene, die die korrespondierende Sequenz des Genoms *Cyanothece* sp. CCY 0110 kodiert, zu nennen. Dazu gehören beispielsweise ein *Type III restriction enzyme*, eine *poly A polymerase* sowie zahlreiche hypothetische Gene. Dabei weist eines dieser hypothetischen Proteine, das *hypothetical protein CY0110_03934* eine Ycf34 Domäne auf. Ycf34 ist ein hypothetisches plastidäres Protein unbekannter Funktion in *Cyanothece* sp. CCY 0110. Das ist im Zusammenhang mit der *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation besonders interessant, da die Sphäroidkörper photosynthetisch vermutlich nicht mehr aktiv sind (Kneip et al. 2008). Dennoch ist nicht auszuschließen, dass das *hypothetical*

protein CYO110_03934 und andere fehlende Gene, die die korrespondierende Sequenz im Genom *Cyanothece* sp. CCY 0110 kodiert, einen anderen Loci im Genom der Sphäroidkörper einnehmen. Die Generierung weiterer Sequenzdaten bleibt also abzuwarten.

2.2 Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern

DeYoe et al. haben gezeigt, dass die Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle von der Stickstoffkonzentration des umgebenden Mediums abhängig ist (DeYoe et al. 1992). Danach nahm die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Diatomee mit Abnahme der Nitratkonzentration zu. Dieses Verhältnis wurde aber nur bei ausreichender Phosphatkonzentration im Medium aufrechterhalten. Das war Anlass genug, die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Zelle in den aus dem Botanischen Garten in Marburg isolierten *Rhopalodia gibba* Kulturen zu bestimmen (Kapitel 5-10). Dafür wurde *Rhopalodia gibba* etwa 14 Tage in dem von DeYoe et al. verwendeten MBL-Medium und im Medium nach Floener und Bothe kultiviert (DeYoe et al. 1992, Floener und Bothe 1980). Letzteres war im Rahmen dieser Arbeit zumeist das Medium der Wahl. Zusätzlich wurde die Nitrat- und Phosphatkonzentration im Medium nach Floener und Bothe dem MBL-Medium und die Nitratkonzentration dem ATCC 1047 Medium *Cyanothece* sp. ATCC 51142 angepasst sowie als alternative Stickstoffquelle di-Ammoniumhydrogenphosphat angeboten. Danach wurde *Rhopalodia gibba* im Floener und Bothe-Medium mit 0,06 mM, 1 mM oder 4,4 mM Kalziumnitrat, 0,1 mM oder 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert. Dabei entsprachen 0,06 mM Kalziumnitrat und 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat dem Original nach Floener und Bothe, 1 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat dem MBL-Medium und 4,4 mM Kalziumnitrat dem Nitratangebot des ATCC 1047 Mediums *Cyanothece* sp. ATCC 51142. Die Mittelwerte der relativen Anteile an *Rhopalodia gibba* Zellen mit einem, zwei oder mehr als zwei Endosymbionten sind in Tabelle 2-2-1 aufgeführt. Die relativen Anteile und die absoluten Zahlen der einzelnen Auszählungen befinden sich im Anhang.

Tabelle 2-2-1: Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle im Medium nach Floener und Bothe und im MBL-Medium. Mit * gekennzeichnete Daten wurden Trapp entnommen (Trapp 2008).

Anzahl Sphäroidkörper	1	2	>2	1	2	>2
Medium nach Floener und Bothe	0,0075 mM K ₂ HPO ₄			0,05 mM K ₂ HPO ₄		
ohne N	46,5%	52,8%	0,7%	10,0%*	90,0%*	
0,06 mM Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	60,4%	39,6%		6,0%	89,6%	4,5%
1 mM Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	35,5%	62,0%	2,5%	31,0%*	69,0%*	
4,4 mM Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	37,0%	60,0%	2,9%	17,2%*	82,8%*	
0,1 mM (NH ₄) ₂ HPO ₄	72,3%	26,2%	1,5%	62,5%*	36,5%*	1,0%*
1 mM (NH ₄) ₂ HPO ₄	58,0%	34,9%	7,1%	7,3%*	90,0%*	2,7%*
MBL-Medium						
ohne N	27,9%	61,2%	10,9%			
1 mM NaNO ₃	58,9%	38,6%	2,5%			
2 mM NaNO ₃	74,2%	25,1%	0,7%			

Die Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle zeigt, dass die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Diatomee, die im Medium nach Floener und Bothe kultiviert wurden, nicht zwingend mit Abnahme der Nitrat- oder Ammoniumkonzentration zunimmt (Tabelle 2-2-1). Vergleicht man beispielsweise *Rhopalodia gibba* Zellen, die mit 1 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit Diatomeen, die mit 4,4 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, fällt auf, dass der Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit zwei und mehr Sphäroidkörpern mit Zunahme der Nitratkonzentration zunimmt. Entsprechendes zeigt auch der Vergleich von Diatomeen, die mit 0,1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit *Rhopalodia gibba* Zellen, die mit 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden: Die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Diatomee nimmt mit Zunahme der Ammoniumkonzentration zu.

Dies betrifft aber nicht alle im Medium nach Floener und Bothe kultivierten *Rhopalodia gibba* Zellen gleichermaßen. Vergleicht man beispielsweise Diatomeen, die im Medium ohne Kalziumnitrat und mit 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit *Rhopalodia gibba* Zellen, die im Medium mit 0,06 Kalziumnitrat und 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, fällt auf, dass die Anzahl an Sphäroidkörpern mit Zunahme der Nitratkonzentration abnimmt. Danach weisen die ohne Kalziumnitrat kultivierten Diatomeen einen höheren Anteil an Zellen mit zwei und mehr Sphäroidkörpern (53,5%), die im nitrathaltigen Medium kultivierten *Rhopalodia gibba* Zellen hingegen einen höheren

Anteil an Zellen mit einem Sphäroidkörper (60,4%) auf. Entsprechendes gilt auch für den Vergleich von Diatomeen, die im Medium ohne Kalziumnitrat und mit 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit *Rhopalodia gibba* Zellen, die im Medium mit 1 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, sowie für den Vergleich von *Rhopalodia gibba* Zellen, die im Medium ohne Kalziumnitrat und mit 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit Diatomeen, die im Medium mit 4,4 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden. Dennoch ist der Anteil an Zellen, die einen Sphäroidkörper beinhalten, höher, wenn *Rhopalodia gibba* im Medium mit 1 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurde (31,0%), als in Diatomeen, die im Medium mit 4,4 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden (17,2%). In diesem Fall nimmt die Anzahl an Endosymbionten pro *Rhopalodia gibba* Zelle nicht mit Abnahme der Nitratkonzentration zu.

Rhopalodia gibba Zellen, die mit di-Ammoniumhydrogenphosphat kultiviert wurden, besitzen mit mindestens 58,0% den nahezu höchsten Anteil an Zellen mit einem Sphäroidkörper. Davon ausgenommen bleiben Diatomeen, die mit 1 mM Ammoniumhydrogenphosphat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden (7,3% Zellen mit einem Endosymbionten). Dennoch ist der Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit einem Sphäroidkörper, die im Medium mit 0,1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat kultiviert wurden, höher als Diatomeen, die im Medium mit 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat kultiviert wurden, unabhängig davon, ob *Rhopalodia gibba* mit 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat im Medium kultiviert wurde. Auch hier gilt, dass die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Diatomee nicht mit Abnahme der Ammoniumkonzentration zunimmt.

Einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Anzahl an Sphäroidkörpern pro Zelle und der Nitratkonzentration zeigen die im MBL-Medium kultivierten Diatomeen auf: Während der relative Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen, die einen Sphäroidkörper aufweisen, mit Zunahme der Nitratkonzentration zunimmt, nimmt der relative Anteil an Zellen, die zwei und mehr Sphäroidkörper beinhalten mit Abnahme der Nitratkonzentration zu (Tabelle 2-2-1).

2.3 Quantitativer Nachweis der Transkriptlevel von *nifD* aus *Rhopalodia gibbas* Sphäroidkörpern und aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142

Während Sphäroidkörper molekularen Stickstoff in der Hellphase fixieren, wird dies von *Cyanothece* sp. ATCC 51142 ausschließlich in der Dunkelfase und nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen geleistet (Floener und Bothe 1980, Pechtl et al. 2004, Colón-López et al. 1997). *Northern Blot*-Analysen haben gezeigt, dass der Nitrogenase-Komplex in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 transkriptionell reguliert wird (Colón-López et al. 1997). Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher die transkriptionelle Regulation der Stickstofffixierung in beiden Organismen mit Hilfe der quantitativen *Real Time*-PCR untersucht. Grundlage dieser quantitativen *Real Time*-PCR waren Transkripte von *nifD*, das eine Untereinheit der Nitrogenase kodiert, als Referenz wurde die 16S rRNA eingesetzt.

2.3.1 RNA-Isolation aus Sphäroidkörpern und *Cyanothece* sp. ATCC 51142

RNA aus Sphäroidkörpern und *Cyanothece* sp. ATCC 51142 wurde an fünf Zeitpunkten im Verlauf eines Tages aus Medien ohne und mit Stickstoffquelle isoliert (Kapitel 5.12.2). Dabei wurde die RNA alle sechs Stunden, beginnend vier Stunden nach Start der Hellphase aus Sphäroidkörpern bzw. Dunkelfase aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und zusätzlich zwei Stunden nach Start der Hellphase aus Sphäroidkörpern bzw. Dunkelfase aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 isoliert, da zu diesem Zeitpunkt die stärkste Transkription der *nifD* Gene erwartet wurde (Colón-López et al. 1997).

2.3.2 Quantitative *Real Time*-PCR

Für die quantitative *Real Time*-PCR wurde zunächst aus der isolierten RNA der Sphäroidkörpern und aus der isolierten RNA *Cyanothece* sp. ATCC 51142 mittels *Random Hexamer* Oligonukleotiden cDNA synthetisiert (Kapitel 5.13.2.1). Um die Ergebnisse der auf dieser cDNA basierenden *Real Time*-PCR vergleichbar zu machen,

war es dabei entscheidend, gleiche Mengen an RNA einzusetzen, pro Ansatz wurden 500 ng RNA verwendet. Zudem wurden von jeder RNA-Probe Triplets hergestellt, um mögliche Fehler durch die anschließende Berechnung des Mittelwerts zu verringern. Als Negativkontrolle wurde zusätzlich von jeder RNA-Probe mindestens eine cDNA Synthese ohne Reverse Transkriptase durchgeführt. Die eigentliche quantitative *Real Time*-PCR wurde mit *nifD* (CYnifDRT_uni und CYnifDRT_rev sowie nifDRT_uni und nifDRT_rev) und 16S rDNA (CY16sRT_uni und CY16sRT_rev sowie SK16Suni3 und SK16Srev3) spezifischen Oligonukleotiden durchgeführt, als *Annealing*-Temperatur wurden für die Sphäroidkörper und *Cyanothece* sp. ATCC 51142 *Real Time*-PCR 56,7 °C bzw. 53,4 °C gewählt (5.13.2.2).

Als Maß für die Quantifizierung der Startmenge dient in der *Real Time*-PCR der sogenannte C_t -Wert. Dieser entspricht der Anzahl an PCR-Zyklen, die nötig sind, um ein konstantes Fluoreszenzniveau zu erreichen. Um die C_t -Werte verschiedener *Real Time*-PCR Experimente vergleichbar zu machen, wurde ein Fluoreszenzniveau von 1 200 manuell bestimmt. Mittels relativer Quantifizierung wurde der C_t -Wert von *nifD* mit dem der 16S rDNA normiert. Dazu wurden zunächst die Mittelwerte der Triplets bestimmt und anschließend die ΔC_t -Werte mit folgender Formel berechnet:

$$\Delta C_t = C_t \text{ nifD} - C_t \text{ 16S rDNA} \quad (\text{F1})$$

Nach der Normierung wurde einerseits für die Bestimmung des Transkriptlevels im Verlauf von 24 Stunden jeweils der höchste ΔC_t -Wert für jedes Medium und jeden Organismus von den verbleibenden RNA Isolationzeiten gemäß folgender Formel subtrahiert:

$$\Delta \Delta C_t = \Delta C_t (y \text{ Uhr}) - \Delta C_t (x \text{ Uhr}) \quad (\text{F2})$$

x: Zeitpunkt mit dem höchsten ΔC_t -Wert, y: verbleibende Zeitpunkte

Um die Abhängigkeit des Transkriptlevels von der zur Verfügung stehenden Stickstoffquelle darzustellen wurde andererseits der ΔC_t -Wert des Mediums mit Stickstoffquelle vom Medium ohne Stickstoffquelle für jede Uhrzeit und jeden Organismus gemäß folgender Formel subtrahiert:

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_t (\text{x Uhr, - Nitrat}) - \Delta C_t (\text{x Uhr, + Nitrat}) \quad (\text{F3})$$

Eine optimale Effizienz der *Real Time*-PCR, also eine Verdoppelung der DNA Menge in jedem Zyklus vorausgesetzt, lässt sich der relative Unterschied im Transkriptlevel mit folgender Formel errechnen:

$$2^{-\Delta\Delta C_t} = \text{n-facher Transkriptlevel} \quad (\text{F4})$$

2.3.3 Relative Quantifizierung der *Cyanothece* sp. ATCC 51142 *nifD* mRNA

Für die relative Quantifizierung des *nifD* Transkriptlevels in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 wurde dreimal unabhängig voneinander über einen gesamten Hell-Dunkelzyklus RNA aus Kulturen mit 8,8 mM NaNO₃ und ohne NaNO₃ im Medium isoliert (Kapitel 5.12.2). Die Mittelwerte der C_t-Werte und die mittels Formel (F1) ermittelten ΔC_t-Werte sind in Tabelle 2-3-1 aufgeführt. Die C_t- und ΔC_t-Werte der einzelnen *Real Time*-PCR Experimente befinden sich im Anhang.

Tabelle 2-3-1: C_t- und ΔC_t-Werte der *Real Time*-PCR Experimente basierend auf der RNA aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142. Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt. * entspricht dem Zeitpunkt mit dem höchsten ΔC_t-Wert.

Uhrzeit	Medium	C _t <i>nifD</i>	C _t 16S rDNA	ΔC _t
12.00	+ Nitrat	27,75	6,23	21,52*
12.00	- Nitrat	25,91	5,97	19,95*
18.00	+ Nitrat	25,38	5,36	20,02
18.00	- Nitrat	20,19	3,78	16,40
24.00	+ Nitrat	27,19	7,91	19,28
24.00	- Nitrat	15,35	6,54	8,81
2.00	+ Nitrat	26,02	6,42	19,60
2.00	- Nitrat	14,36	5,73	8,63
6.00	+ Nitrat	27,80	8,01	19,79
6.00	- Nitrat	16,89	6,98	9,91

Vergleicht man die ΔC_t-Werte der *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen aus nitrathaltigem Medium, fällt auf, dass diese über den Zeitraum der Probennahme annähernd konstant bleiben und in etwa den ΔC_t-Werten der in der Hellphase aus nitratfreiem Medium isolierten Proben entsprechen. Im Gegensatz dazu sind die ΔC_t-Werte der in der Dunkelphase isolierten Proben aus nitratfreiem Medium sehr viel

niedriger (Tabelle 2-3-1). Diese entsprechen darüber hinaus in etwa den ΔC_t -Werten der Sphäroidkörper (Kapitel 2.3.4).

In Tabelle 2-3-2 ist der *nifD* Transkriptlevel von *Cyanothece* sp. ATCC 51142 im Verlauf von 24 Stunden dargestellt, jeweils für Zellen aus nitrathaltigem und nitratfreiem Medium. Grundlage dieser Darstellung sind die basierend auf Formel (F2) errechneten $\Delta\Delta C_t$ -Werte, dabei wurde als Referenz jeweils der höchste ΔC_t -Wert um 12.00 Uhr herangezogen. Der *nifD* Transkriptlevel wurde im Anschluss mit der Formel (F4) bestimmt. Vergleicht man die *nifD* Transkriptlevel der Zellen aus nitrathaltigem Medium fallen kaum Unterschiede auf. So weist beispielsweise der maximale Transkriptlevel um 24.00 Uhr einen 4,73-fachen Unterschied zur Referenz um 12.00 Uhr auf. Im Gegensatz dazu variieren die *nifD* Transkriptlevel der *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen, die in Medium ohne Nitrat kultiviert wurden, beträchtlich. Zwar entspricht der *nifD* Transkriptlevel der Hellphase mit einem 11,66-fachen Unterschied denen der Proben aus nitrathaltigem Medium, allerdings ist die Anzahl an *nifD* Transkripten in der Dunkelphase außerordentlich erhöht. Dabei steigt der *nifD* Transkriptlevel besonders zu Beginn der Dunkelphase an (2258,44-faches und 2555,10-faches Transkriptlevel um 24.00 bzw. 2.00 Uhr; Tabelle 2-3-2, Abbildung 2-3-1).

Tabelle 2-3-2: Bestimmung der Unterschiede im *nifD* Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142, im Verlauf von 24 Stunden relativ zum höchsten ΔC_t -Wert um 12.00 Uhr (Abbildung 2-3-1). Der $\Delta\Delta C_t$ -Wert wurde mit Hilfe der Formel (F2) bestimmt, der n-fache Transkriptlevel mit Formel (F4). Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt.

Uhrzeit	Medium	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel	Uhrzeit	Medium	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel
18.00	+ Nitrat	-1,5	2,82	18.00	- Nitrat	-3,54	11,66
24.00	+ Nitrat	-2,24	4,73	24.00	- Nitrat	-11,14	2258,44
2.00	+ Nitrat	-1,92	3,80	2.00	- Nitrat	-11,32	2555,10
6.00	+ Nitrat	-1,73	3,31	6.00	- Nitrat	-10,03	1048,74

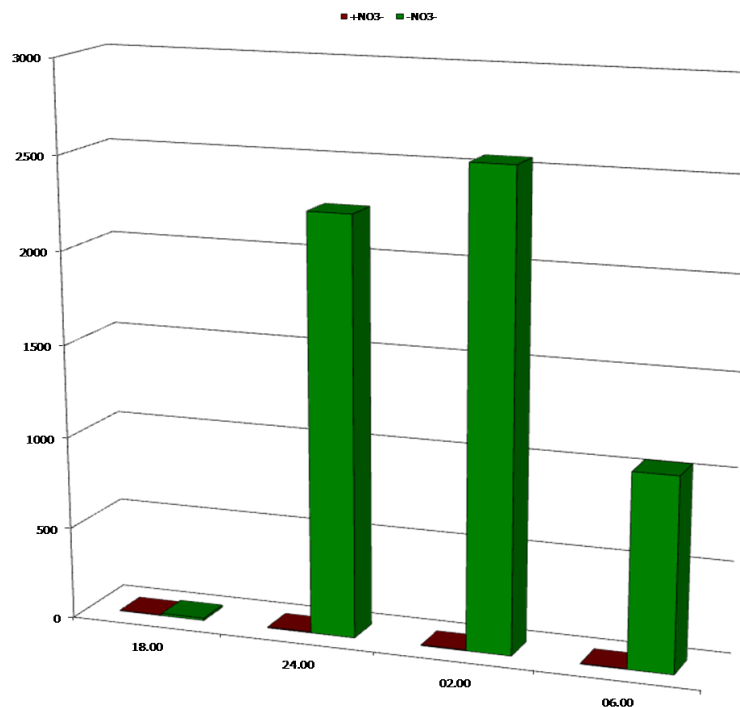


Abbildung 2-3-1: Unterschiede im *nifD* Transkriptlevel basierend auf Tabelle 2-3-2.

Tabelle 2-3-3: Bestimmung der Unterschiede im *nifD* Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen, in Medien ohne Nitrat relativ zu Medien mit Nitrat (Abbildung 2-3-2). Der $\Delta\Delta C_t$ -Wert wurde mit Hilfe der Formel (F3) bestimmt der n-fache Transkriptlevel mit Formel (F4). Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt.

Uhrzeit	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel
12.00	-1,58	2,98
18.00	-3,62	12,31
24.00	-10,47	1422,73
2.00	-10,97	2006,24
6.00	-9,88	943,00

Tabelle 2-3-3 vergleicht den *nifD* Transkriptlevel von *Cyanothece* sp. ATCC in Abhängigkeit von der zur Verfügung stehenden Stickstoffquelle. Grundlage der errechneten $\Delta\Delta C_t$ -Werte war Formel (F3). Als Referenz wurde jeweils der ΔC_t -Wert der Proben aus nitrathaltigem Medium herangezogen. Der *nifD* Transkriptlevel wurde mit der Formel (F4) bestimmt. Auch hier nimmt die Anzahl an Transkripten mit Beginn der Dunkelphase zu, der *nifD* Transkriptlevel ist also in der Dunkelphase in *Cyanothece* sp. ATCC Zellen, die in nitratfreiem Medium kultiviert wurden, sehr viel höher als in Proben aus Medium mit Nitrat. Dabei ist der maximale

Transkriptlevel mit einem Unterschied von 2006,24 um 2.00 Uhr zu verzeichnen (Tabelle 2-3-3, Abbildung 2-3-2). Dieser Vergleich bestätigt damit den Verlauf des *nifD* Transkriptlevels in *Cyanothece* sp. ATCC innerhalb von 24 Stunden.

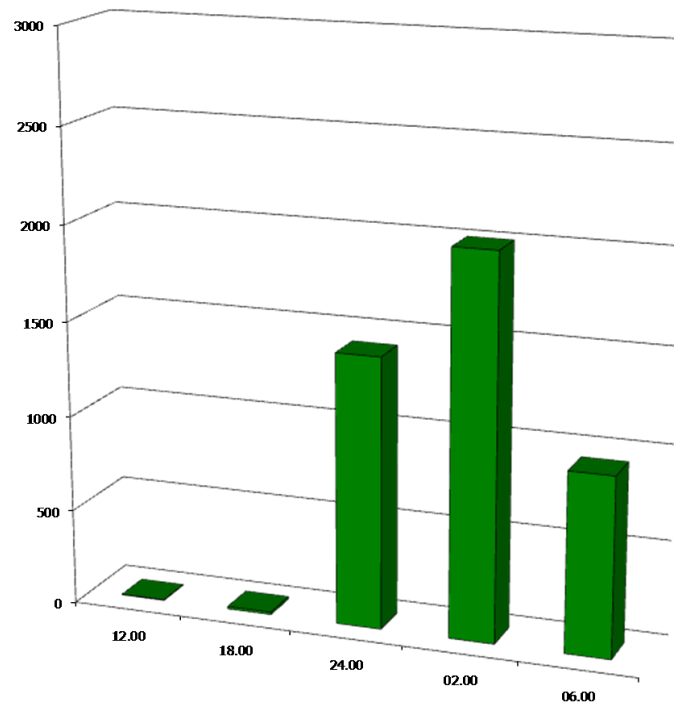


Abbildung 2-3-2: Unterschiede im *nifD* Transkriptlevel basierend auf Tabelle 2-3-3.

2.3.4 Relative Quantifizierung der Sphäroidkörper *nifD* mRNA

Für die relative Quantifizierung des *nifD* Transkriptlevels der Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba* wurde unabhängig voneinander einmal Sphäroidkörper RNA aus *Rhopalodia gibba* Kulturen mit 0,06 mM Kalziumnitrat im Medium, zweimal Sphäroidkörper RNA aus *Rhopalodia gibba* Kulturen mit 1 mM Kalziumnitrat im Medium und dreimal Sphäroidkörper RNA aus *Rhopalodia gibba* Kulturen ohne Kalziumnitrat im Medium über einen gesamten Hell-Dunkelzyklus isoliert (Kapitel 5.12.2). Grundlage war das modifizierte Medium nach Floener und Bothe (Floener und Bothe 1980). Die in Tabelle 2-3-4 folgenden C_t -Werte und die mittels Formel (F1) ermittelten ΔC_t -Werte entsprechen den Mittelwerten aller durchgeführten *Real Time*-PCR Experimente. Dabei war die Bestimmung des Mittelwertes trotz unterschiedlicher Konzentration an Kalziumnitrat im Medium möglich, da sich die

C_t - und ΔC_t -Werte der verschiedenen *Real Time*-PCR Experimente kaum unterschieden haben (Tabelle im Anhang).

Tabelle 2-3-4: C_t - und ΔC_t -Werte der *Real Time*-PCR Experimente basierend auf der RNA der Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba*. Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt. * entspricht dem Zeitpunkt mit dem höchsten ΔC_t -Wert.

Uhrzeit	Medium	C_t <i>nifD</i>	C_t 16S rDNA	ΔC_t
10.00	+ Nitrat	17,85	9,32	8,53*
10.00	- Nitrat	16,43	7,80	8,63*
12.00	+ Nitrat	18,48	10,80	7,68
12.00	- Nitrat	17,19	8,95	8,25
16.00	+ Nitrat	20,47	14,28	6,20
16.00	- Nitrat	19,48	12,18	7,30
22.00	+ Nitrat	19,35	11,09	8,26
22.00	- Nitrat	22,45	14,05	8,40
4.00	+ Nitrat	22,52	15,02	7,49
4.00	- Nitrat	21,92	13,30	8,62

Auffällig ist, dass die ΔC_t -Werte aller Proben über den gesamten Zeitraum der Probennahme annähernd konstant bleiben. Dabei entsprechen die ΔC_t -Werte aller Proben in etwa den in der Dunkelphase ermittelten ΔC_t -Werten aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen, die unter Stickstoff limitierten Bedingungen und damit ohne Nitrat im Medium kultiviert wurden (Tabelle 2-3-4, Kapitel 2.3.3).

Tabelle 2-3-5: Bestimmung der Unterschiede im Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus *Rhopalodia gibbas* Sphäroidkörpern, im Verlauf von 24 Stunden relativ zum höchsten ΔC_t -Wert um 10.00 Uhr. Der $\Delta\Delta C_t$ -Wert wurde mit Hilfe der Formel (F2) bestimmt der n-fache Transkriptlevel mit Formel (F4). Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt.

Uhrzeit	Medium	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel	Uhrzeit	Medium	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel
12.00	+ Nitrat	-0,85	1,81	12.00	- Nitrat	-0,38	1,30
16.00	+ Nitrat	-2,33	5,03	16.00	- Nitrat	-1,33	2,51
22.00	+ Nitrat	-0,27	1,21	22.00	- Nitrat	-0,22	1,17
4.00	+ Nitrat	-1,04	2,05	4.00	- Nitrat	-0,01	1,00

Tabelle 2-3-5 vergleicht den *nifD* Transkriptlevel der Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba* innerhalb von 24 Stunden, jeweils für Proben aus nitrathaltigem und nitratfreiem Medium. Die errechneten $\Delta\Delta C_t$ -Werte basieren auf Formel (F2), Referenz war jeweils der höchste ΔC_t -Wert um 10.00 Uhr. Der *nifD* Transkriptlevel wurde mit der Formel (F4) bestimmt. Dabei fällt auf, dass sich nicht nur die *nifD* Transkriptlevel der Proben aus nitrathaltigem Medium, sondern auch die der Proben

aus Kulturen ohne Nitrat im Medium kaum unterscheiden. So weist beispielsweise der höchste Transkriptlevel der Proben aus nitrathaltigem Medium um 16.00 Uhr nur einen 5,03-fachen Unterschied zur Referenz um 10.00 Uhr auf, entsprechendes gilt für den höchsten Transkriptlevel der Proben aus Kulturen ohne Nitrat im Medium mit einem Unterschied von 2,51 (Tabelle 2-3-5).

Bestätigt wird dies durch den Vergleich der *nifD* Transkriptlevel in Abhängigkeit von der zur Verfügung stehenden Stickstoffquelle. Grundlage der errechneten $\Delta\Delta C_t$ -Werte war Formel (F3). Als Referenz wurde jeweils der ΔC_t -Wert des nitrathaltigen Mediums herangezogen. Der *nifD* Transkriptlevel wurde mit der Formel (F4) bestimmt. Auch hier gleichen sich die Transkriptlevel aller Proben, der maximale Transkriptlevel ist mit einem Unterschied von nur 0,46 um 4.00 Uhr zu verzeichnen (Tabelle 2-3-6).

Tabelle 2-3-6: Bestimmung der Unterschiede im Transkriptlevel, basierend auf der RNA aus *Rhopalodia gibbas* Sphäroidkörpern, in Medien ohne Nitrat relativ zu Medien mit Nitrat. Der $\Delta\Delta C_t$ -Wert wurde mit Hilfe von Formel (F3) bestimmt der n-fache Transkriptlevel mit Formel (F4). Proben aus der Dunkelphase sind grau unterlegt.

Uhrzeit	$\Delta\Delta C_t$	n-facher Transkriptlevel
10.00	0,10	0,93
12.00	0,57	0,67
16.00	1,10	0,47
22.00	0,15	0,90
4.00	1,13	0,46

3 Diskussion

3.1 Analyse des Genoms der Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba*

Die Sphäroidkörper der Diatomee *Rhopalodia gibba* sind obligate Endosymbionten cyanobakteriellen Ursprungs, die dem Gesamtorganismus die Möglichkeit zur Fixierung molekularen Stickstoffs eröffnen (Prectl et al. 2004, Kneip et al. 2008). Dabei ist insbesondere die Entwicklung der endosymbiontischen Genome in Folge der Koevolution geprägt von degenerativen Umstrukturierungen, die unter anderem Genverluste, einen Anstieg des A/T-Gehalts und eine Reduktion der Genomgröße betreffen.

Vor diesem Hintergrund wurden in dieser Arbeit vergleichende Sequenzanalysen der Genome – zum einen Endosymbiont versus frei lebende Bakterien, zum anderen Endosymbiont versus intrazelluläre Symbionten oder Pathogenen - durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden Sequenzdaten des Genoms der Sphäroidkörper generiert und diese unter anderem mit der bekannten Sequenz des nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 verglichen.

3.1.1 Metabolisches Potential der Sphäroidkörper

Die bis dato generierten Sequenzdaten umfassen das Genom der Sphäroidkörper nicht gänzlich, so dass die folgende Analyse nur vorläufig sein kann. Zum einen kann das Fehlen eines Gens nicht mit seiner Abwesenheit im gesamten Genom gleichgesetzt werden, auch wenn identifizierte Pseudogene die Deletion der entsprechenden Gene vermuten lassen: Eine Duplikation des intakten Gens an anderen Loci im Genom der Sphäroidkörper kann zum jetzigen Zeitpunkt nicht ausgeschlossen werden. Zum anderen sollte man die angegebenen relativen Zahlen nur als Tendenz werten, auch da nicht ausgeschlossen werden kann, dass durch das gezielte Screening nach Genen, beispielsweise des *nif*-Operons, oder auch durch Zufall, bestimmte Kategorien hervorgehoben wurden. Das gilt insbesondere für den Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem *Cyanothece* sp. ATCC 51142. Nichtsdestotrotz ist die Aussagekraft dieser Zahlen gerade im

Zusammenhang mit dem relativen Anteil an Pseudogenen in den entsprechenden funktionellen Kategorien der Sphäroidkörper nicht zu unterschätzen, auch wenn der relative Anteil an Pseudogenen in der einen oder anderen Kategorie dem Zufall geschuldet sein mag, insbesondere dann, wenn die absoluten Zahlen sehr gering sind. Zu nennen ist dabei beispielsweise die Kategorie *Cell motility*, die mit 50% einen hohen Anteil, in absoluten Zahlen aber nur ein Pseudogen enthält. Dennoch gewinnen die funktionellen Kategorien mit der geringsten Pseudogenisierungsrate an Gewicht. Dabei darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass die Pseudogene der einen oder anderen Kategorie eventuell schon so stark mutiert sind, das sie nicht mehr als solche zu identifizieren sind. Letztlich gilt es, die relativen Zahlen, die sich aus dem Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem *Cyanotherces* sp. ATCC 51142 ergeben, im Zusammenhang mit dem relativen Anteil der funktionellen Kategorien im metabolischen Profil der Sphäroidkörper und dem relativen Anteil an Pseudogenen in den funktionellen Kategorien zu betrachten.

Beim Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanotherce* sp. ATCC 51142 wird deutlich, dass sich beide in ihrem Leistungsvermögen eindeutig unterscheiden. Das gilt insbesondere für die Kategorien *Nucleotide transport and metabolism*, *Energy production and conversion*, *Lipid transport und metabolism*, *Amino acid transport and metabolism*, *Cell motility* und *Signal transduction mechanism*. Dabei fällt auf, dass die Kategorien des Metabolismus in den Sphäroidkörpern in der Regel überrepräsentiert, die Kategorien der Informationsverarbeitung und der zellulären Prozesse im Gegensatz dazu eher unterrepräsentiert sind. Als Charakteristikum zahlreicher funktioneller Kategorien ist auch das Auftreten verschiedenster Pseudogene zu nennen, das betrifft insbesondere die Kategorien *Cell motility*, *Replication, recombination and repair* und *Lipid transport and metabolism* (Kapitel 2.1.5).

Energy production and conversion

Zahlreiche putative Proteine der Stickstofffixierung findet man in der Kategorie *Energy production and conversion*, die 13% aller putativen Proteine des bisher analysierten Proteoms der Sphäroidkörper umfasst. Auch der Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei

lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 hebt die Bedeutung der Stickstofffixierung für die *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation hervor. Dennoch – auch ohne die putativen Stickstoff fixierenden Proteine in dieser Kategorie zu berücksichtigen – unterscheidet sich die relative Verteilung deutlich, so dass die Kategorie *Energy production and conversion* von besonderer Wichtigkeit zu sein scheint. Das wird auch durch den geringen Anteil an Pseudogenen in dieser Kategorie (16%) unterstrichen. Viele putative Proteine in dieser Kategorie übernehmen Funktionen der Zellatmung. Dazu gehören Proteine des Citratzyklus und der oxidativen Phosphorylierung. Dabei ist ein Gen der oxidativen Phosphorylierung, die *COG1008: NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 4*, putativ pseudogenisiert. Dieses Pseudogen kodierte eine NADH Dehydrogenase der NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase. Dennoch bleibt festzuhalten, dass der Kategorie *Energy production and conversion* mit der *FAD-dependent pyridine nukleotide-disulphide oxidoreductase* eine putativ funktionelle NADH Dehydrogenase zugeordnet wurde (Kapitel 2.1.5). Diese funktionelle NADH Dehydrogenase mag dabei die Funktion der pseudogenisierten ausfüllen.

Eng mit der Zellatmung verknüpft sind die Glycolyse und der Pentosephosphatweg, deren Proteine der Kategorie *Carbohydrate transport and metabolism* zugeordnet wurden (Kapitel 2.1.5).

Auffällig ist, dass mindestens zwei Operons, die für die Cytochrom-Oxidase kodieren, im Genom der Sphäroidkörper erhalten geblieben sind (Kapitel 2.1.5). Dies ist ungewöhnlich, da intrazelluläre Genome generell eher einer Reduzierung und Rationalisierung unterworfen sind. Zum Vergleich: In den nicht reduzierten Genomen der frei lebenden Cyanobakterien *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und *Synechocystis* PCC 6803 findet man auch nur drei bzw. zwei Cytochrom-Oxidase Operons.

Die Zellatmung ist ein sehr effizienter Reaktionsweg, bei der aus organischen Verbindungen und Sauerstoff Kohlendioxid, Wasser und Energie in Form von ATP und Wärme synthetisiert wird. Damit stellt sie vermutlich nicht nur wenigstens einen Teil der Energie für die biologische Stickstofffixierung der Sphäroidkörper bereit sondern bietet auch ein ausreichend anaerobes Milieu, welches den in Anwesenheit von Sauerstoff ausgesprochen instabilen Nitrogenase-Komplex vor Inaktivierung schützt. Vergleichbares ist beispielsweise auch aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 bekannt, wo die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes zeitlich mit hohen Atmungsraten zusammenfällt (Berman-Frank et al. 2003, Colón-López et al. 1997).

Zusätzlich ist die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 zeitlich von der Lichtreaktion der Photosynthese getrennt. Im Gegensatz dazu haben Acetylenreduktionstests die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes der Sphäroidkörper nur in der Hellphase nachweisen können (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). Das überrascht insofern, da *Rhopalodia gibba* in der Hellphase zusätzlich photosynthetisch aktiv ist. Allerdings bleibt zu berücksichtigen, dass die Prozesse der Stickstofffixierung und Photosynthese in *Rhopalodia gibba* räumlich voneinander getrennt sind. So sind die Sphäroidkörper von einer Doppelmembran plus der symbiontophoren Membran umgeben, die Plastide ist von vier Membranen umgeben, damit sind die Stickstofffixierung der Sphäroidkörper und die Photosynthese der Plastide insgesamt durch sieben Membranen voneinander getrennt.

Die Kategorie *Energy production and conversion* beinhaltet nicht nur putativ aktive Proteine, sondern auch pseudogenisierte Gene. Dazu gehören Gene, die Proteine der Milchsäuregärung kodierten (Kapitel 2.1.5). Die Milchsäuregärung erlaubt den anaeroben Abbau unterschiedlicher Zucker zu Milchsäure unter Ausbildung von ATP. Danach steht zu vermuten, dass die Endosymbionten *Rhopalodia gibba* für die Produktion von ATP ausschließlich auf die Zellatmung angewiesen sind. Dies ist auch aus anderen Endosymbionten bekannt, zu nennen sind dabei *Buchnera aphidicola* und *Sodalis glossinidius*, die Endosymbionten der Blattlaus bzw. Tsetsefliege. Während die Genome der beiden letztgenannten Endosymbionten Proteine der Zellatmung kodieren, sind die Proteine, die im Zusammenhang mit der Gärung zu nennen sind, deletiert (Zientz et al. 2001, Toh et al. 2006).

Amino acid transport and metabolism

Viele putative Proteine der Sphäroidkörper wurden in der Kategorie *Amino acid transport and metabolism* zusammengefasst, die 10% des bisher analysierten Proteoms der Sphäroidkörper ausmacht. Dabei unterstreicht auch der Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 das Gewicht dieser Kategorie für die Endosymbionten, auch der Anteil an Pseudogenen ist mit 14% eher gering. Ein Großteil der putativen Proteine dieser Kategorie ist an der Biosynthese verschiedenster Aminosäuren, beispielsweise der nicht essentiellen Aminosäuren Aspartat, Cystein und Tyrosin sowie der essentiellen Aminosäuren Histidin, Isoleucin

und Valin, beteiligt. Proteine, die Funktionen in der Biosynthese der nicht essentiellen Aminosäuren Alanin, Glutamin, Glutamat, Glycin und Prolin sowie der essentiellen Aminosäuren Arginin und Methionin übernehmen, fehlen (Kapitel 2.1.5). Als Ursache dieser fehlenden Aminosäuren ist vermutlich das bis dato nicht gänzlich sequenzierte Genom der Sphäroidkörper zu nennen. Dafür spricht auch, dass bisher keine Pseudogene, die Enzyme der fehlenden Aminosäurebiosynthesewege kodierten, identifiziert wurden. Zwar bleibt die weitere Sequenzierung des Genoms der Sphäroidkörper abzuwarten, dennoch lassen die bisher generierten Daten die Vermutung zu, dass die Sphäroidkörper eine intakte Maschinerie für die Biosynthese aller Aminosäuren besitzen. Vergleichbares ist auch den Sequenzdaten evolutionär junger Endosymbionten wie *Sodalis glossinidius* zu entnehmen. Dieser besitzt die für die Biosynthese aller Aminosäuren mit Ausnahme von Alanin erforderlichen Komponenten (Toh et al. 2006). Im Gegensatz dazu kodieren die Genome sehr alter Endosymbionten nur noch Proteine für die Biosynthese ausgewählter Aminosäuren. Beispielsweise findet man in *Buchnera aphidicola*, nur solche Reaktionswege, die die Biosynthese der für seinen Wirt essentiellen Aminosäuren erlaubt (Shigenobu et al. 2000). Auch intrazelluläre Pathogenen haben die Fähigkeit zur Aminosäurebiosynthese zumeist gänzlich verloren (Dagan et al. 2006).

Cell wall/membrane/envelope biogenesis

Der Anteil an Proteinen der Kategorie *Cell wall/membrane/envelope biogenesis* macht 8% des gesamten bisher analysierten Proteoms der Sphäroidkörper aus und folgt damit den wichtigen Kategorien *Energy production and conversion* und *Amino acid transport and metabolism* mit 13% bzw. 10%, auch der Anteil an Pseudogenen dieser Kategorie ist mit 12% eher gering. Viele Proteine der Kategorie *Cell wall/membrane/envelope biogenesis* sind an der Synthese der prokaryotischen Zellwand beteiligt. Dazu gehört beispielsweise die *UDP-N-acetylmuramoylalanine-D-glutamyl-2, 6-diaminopimelate--D-alanyl-D-alanine ligase* (Kapitel 2.1.5). Das lässt die Vermutung zu, dass die Sphäroidkörper zumindest von einer rudimentären Zellwand umgeben sind. Diese Annahme wird auch von elektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigt, denen zufolge die Sphäroidkörper von einer, eine dünne Schicht aus Peptidoglycan umfassenden Doppelmembran umgeben sind. Nichtsdestotrotz scheint zumindest die Lipopolysaccharidschicht der Sphäroidkörper nicht mehr intakt zu sein. Grundlage dieser Vermutung sind die beiden im Genom

der Sphäroidkörper identifizierten Pseudogene, die ursprünglich Proteine für die Synthese der GDP-L-Fucose, einem Bestandteil der Lipopolysaccharidschicht, kodierten. Eine Zellwand bietet mechanischen Schutz und bewahrt Zellen vor dem Platzen in einem hypotonischen Milieu, für einen intrazellulären Lebensstil sind Zellwände also nicht zwingend erforderlich. Dennoch gilt die Zellwand als ein Charakteristikum vieler bekannter Endosymbionten, auch wenn diese zumeist nur noch rudimentär vorhanden ist. So sind beispielsweise *Buchnera aphidicola* und der cyanobakterielle Endosymbiont der Amöbe *Paulinella chromatophora*, das sogenannte Chromatophor, von einer Zellwand umgeben. Dabei ist die Lipopolysaccharidschicht im Fall *Buchnera aphidicola*s nur noch rudimentär ausgeprägt, im Chromatophor fehlt sie völlig. (Shigenobu et al. 2000, Nowack et al. 2008)

Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport

Die Kategorie *Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport* umfasst nur 1% aller bisher identifizierten putativ aktiven Proteine der Sphäroidkörper. Der Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 und der Anteil an Pseudogenen (20%) verdeutlicht, dass diese Kategorie für die Endosymbionten an Bedeutung verloren hat (Kapitel 2.1.5).

Dabei sei das Pseudogen der Kategorie *Intracellular trafficking, secretion and vesicular transport*, das *hypothetical protein CY0110_08031*, an dieser Stelle besonders hervorgehoben (Kapitel 2.1.5). Dieses übernahm als großes Exoprotein vermutlich eine Funktion im Zusammenhang mit der Adhäsion, also dem Anhaften einer Zelle an anderen oder einer extrazellulären Matrix. Die Adhäsion bietet intrazellulär lebenden Organismen wie *Rhopalodia gibbas* Sphäroidkörpern aber vermutlich keinen Vorteil. So nahm der auf das *hypothetical protein CY0110_08031* wirkende Selektionsdruck ab und das Exoprotein wurde vermutlich letztlich inaktiviert.

Photosynthese

Die Sphäroidkörper zeigen trotz ihres cyanobakteriellen Ursprungs keine charakteristische Färbung, die durch die Farbstoffe der Photosynthese hervorgerufen wird (Kneip et al. 2008). Dies lässt den Verlust der photosynthetischen Aktivität

vermuten. Diese Annahme wird auch durch die Identifizierung zahlreicher pseudogenisierter Gene, die ursprünglich Proteine der Photosynthese kodierten, unterstützt (Kapitel 2.1.5). Setzt man Syntenie voraus, fehlen den Sphäroidkörpern ein Alignment mit dem Genom *Cyanothece* sp. CCY 0110 und einem Alignment mit dem Genom *Cyanothece* sp. ATCC 51142 folgend, vermutlich auch das putative Plastidenprotein Ycf34 bzw. das von *petJ* kodierten Protein Cytochrom c6 (Kapitel 2.1.6; Kneip et al. 2008). Dabei kodierten die pseudogenisierten oder vermutlich fehlenden Gene Proteine der Photosysteme I und II, Proteine des photosynthetischen Elektronentransports sowie Proteine, die eine Rolle bei der Synthese von Chlorophyll a und b spielen. Photosynthetisch aktive Proteine wurden im bereits sequenzierten Genom der Sphäroidkörper nicht identifiziert, sieht man von Plastocyanin ab (persönliche Mitteilung E. Trapp). Plastocyanin ist ein lösliches Kupferprotein, das Elektronen vom Cytochrom *b₆f* Komplex zum Photosystem I überträgt. Zusätzlich übernimmt Plastocyanin vermutlich Funktionen im Zusammenhang mit der Atmungskette und der Kupfer-Homöostase (Bernroither et al. 2008, Puig et al. 2007). Dabei scheinen die beiden letztgenannten Funktionen des Plastocyanins im Fall der photosynthetisch nicht mehr aktiven Sphäroidkörper von Bedeutung zu sein. Das gilt insbesondere für die Funktion, die Plastocyanin als Protein der Atmungskette in den Stickstoff fixierenden Sphäroidkörpern einnimmt. Der Verlust der photosynthetischen Aktivität seitens der Sphäroidkörper folgt vermutlich ihrem endosymbiontischen Lebensstil. So bietet ein photosynthetisch aktiver Symbiont seiner ebenfalls photosynthetisch aktiven Wirtszelle keinen Vorteil, im Gegenteil: beide konkurrieren um Licht und Kohlendioxid (CO₂). Die symbiontisch lebenden *Azollas* und *Gunneras* zeigen eine im Vergleich zu frei lebenden eine reduzierte Photosyntheseaktivität und CO₂-Fixierung (Kaplan und Peters 1988, Söderbäck und Bergman 1992). Damit stellen diese fakultativen Symbionten vermutlich eine Vorstufe zum Verlust der photosynthetischen Aktivität, die die obligat symbiontisch lebenden Sphäroidkörper charakterisiert, dar. Die Lichtreaktionen der Photosynthese und der sich anschließende Calvin-Zyklus setzen Lichtenergie in die chemische Energie der Nährstoffe um: Zunächst wird die Lichtenergie in Form von NADPH und ATP als chemische Energie gespeichert. Im Anschluss wird CO₂ durch die Aufnahme von Elektronen zum Kohlenhydrat reduziert. Dabei dient NADPH als Reduktionsmittel, chemische Energie wird in Form von ATP bereitgestellt. Versorgt der Wirt nun seinen Symbionten mit chemischer Energie und Kohlenhydraten, macht das die Photosyntheseaktivität des Symbionten hinfällig. Dies ist in vielen Symbiosen

gezeigt, so erhalten beispielsweise die Symbionten der arbuskulären Mycorrhiza Kohlenhydrate, entsprechendes gilt vermutlich auch für die *Rhopalodia gibba* – Sphäroidkörper Assoziation (Pfeffer et al. 1999).

Während die im Genom der Sphäroidkörper identifizierten Pseudogene, das *Photosystem II extrinsic protein*, das *photosystem II CP43 protein* und das *photosystem II D2 protein*, Proteine des Photosystems II kodierten, kann nur das Pseudogen *Ycf37* als ursprüngliches *Photosystem I assembly protein* dem Photosystem I zugeordnet werden (Kapitel 2.1.5). Das lässt die Vermutung zu, dass das Photosystem I der Sphäroidkörper vor dem Photosystem II inaktiviert wurde. Danach sind Pseudogene, die Proteine des Photosystem I kodierten, im Genom der Sphäroidkörper nicht mehr als solche zu erkennen. Auch ist nicht auszuschließen, dass die kodierende Sequenz komplett verloren gegangen ist. Dabei überrascht die Inaktivierung von Photosystem I vor Photosystem II: Während nur die Reaktion des Photosystems II Sauerstoff produziert, erlaubt Photosystem I auch den zyklischen, ATP produzierenden, Elektronentransport. Das nutzen einige diazotrophe Organismen, zu nennen sind dabei die Heterozysten, Spezialisten der Stickstofffixierung, und die einzelligen diazotrophen Cyanobakterien der „Gruppe A“ oder UCYN-A (Meeks und Elhai 2002, Zehr et al. 2008). Charakteristikum dieser Zellen ist die Inaktivierung von Photosystem II, während das Photosystem I aktiv bleibt. Das schützt den in Anwesenheit von Sauerstoff extrem instabilen Nitrogenase-Komplex vor Inaktivierung und stellt zugleich einen Teil der großen Mengen an Energie, die für den Prozess der biologischen Stickstofffixierung aufgewendet werden müssen, bereit. Vor diesem Hintergrund ist die Inaktivierung des Photosystems I der Sphäroidkörper vor dem Photosystem II mehr als ungewöhnlich. Dennoch darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die Pseudogene des Photosystems I eventuell nur in den bisher generierten Sequenzen, nicht aber im Genom in seiner Gänze unterrepräsentiert ist. Die weitere Sequenzierung des Genoms der Sphäroidkörper bleibt also abzuwarten.

Signal transduction mechanism

Die Mechanismen der Signaltransduktion sind im bisher analysierten Proteom der Sphäroidkörper unterrepräsentiert (2% bei den Sphäroidkörpern gegenüber 7% bei *Cyanothece* sp. ATCC 51142), was vermutlich eine Anpassung der Sphäroidkörper an ihr intrazelluläres Habitat zeigt (Kapitel 2.1.5). Die Signaltransduktion beschreibt

die Fähigkeit von Zellen, äußere Signale aufzunehmen und auf sie zu reagieren. Dazu zählen unter anderem der pH-Wert, die Höhe des osmotischen Drucks und die Verfügbarkeit von Nährstoffen, Sauerstoff und Licht (Nelson und Cox 2001). Der intrazelluläre Lebensstil der Sphäroidkörper bietet ein stabiles Milieu und macht damit vermutlich die Signaltransduktion zumindest zum Teil überflüssig. Dennoch ist die Signaltransduktion für den Austausch von Signalen zwischen *Rhopalodia gibba* und seinen Sphäroidkörpern essentiell. So findet man in der Kategorie *Signal transduction mechanism* neben sieben putativen Proteinen nur ein (13%) putatives Pseudogen (Kapitel 2.1.5). Damit ist die Anzahl an Pseudogenen in dieser Kategorie außerordentlich gering, so dass nicht auszuschließen ist, dass die Mechanismen der Signaltransduktion nur in den bis dato generierten Sequenzen, nicht aber im Genom in seiner Gänze unterrepräsentiert sind.

Transcription

Ein Charakteristikum alter obligater Endosymbionten ist der Verlust von Genen, die Proteine der Transkription kodierten (Dagan et al. 2006). Das betrifft insbesondere Gene, die regulatorische Transkriptionsproteine kodierten (Wilcox et al. 2003). So fehlen beispielsweise im Genom *Buchnera aphidicolas* zahlreiche Gene, die Proteine der Transkriptionsinitiation und –termination kodierten. Das lässt die Vermutung zu, dass die Transkription in *Buchnera aphidicola* weniger stringent als in frei lebenden Bakterien reguliert wird (Klasson und Andersson 2004). Damit unterscheidet sich der alte obligate Endosymbiont *Buchnera aphidicola* eindeutig von den Sphäroidkörpern, deren Transkription vermutlich ähnlich stringent wie in ihrem frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 reguliert wird. Grundlage dieser Vermutung ist zum einen, dass bereits zahlreiche Gene, die transkriptionelle Regulatoren kodieren, im Genom der Sphäroidkörper identifiziert wurden. Diese sind in der Kategorie *Transcription* zusammengefasst. Zum anderen ist kein Gen dieser Kategorie pseudogenisiert (Kapitel 2.1.5). Dennoch bleibt festzuhalten, dass die Kategorie *Transcription* im Vergleich zu *Cyanothece* sp. ATCC 51142 reduziert ist (3% bei den Sphäroidkörpern gegenüber 4% bei *Cyanothece* sp. ATCC 51142). Auch hier bleibt also die Generierung weiterer Sequenzdaten abzuwarten.

DNA-Reparatur

Als weiteres Charakteristikum alter obligater Endosymbionten ist der Verlust von Genen zu nennen, die Proteine der DNA-Reparatur kodierten (Dagan et al. 2006). Als Beispiel sei hier das Genom *Buchnera aphidicolas* genannt, dass weder die Gene *uvrA*, *uvrB* und *uvrC*, die Proteine der Exzisions- und Mismatchreparatur kodieren, noch die Gene *recA* und *recF*, die Proteine kodieren, welche DNA-Einzel- und Doppelstrangbrüche mittels homologer Rekombination reparieren, beinhaltet (Tabelle 3-1-1; Shigenobu et al. 2000). Im Gegensatz dazu kodiert das Genom des jungen Endosymbionten *Sodalis glossinidius* mit *RecA* und *RecF* sowie zahlreichen Komponenten der Excisions- und Mismatchreparatur Proteine der DNA-Reparatur (Tabelle 3-1-1; Dale et al. 2003). Gleiches gilt für die Sphäroidkörper, denen mit *RecA* und *RecF* nicht nur Komponenten der homologen Rekombination sondern auch Komponenten der Excisions- und Mismatchreparatur zu eigen sind (Tabelle 3-1-1; Kapitel 2.1.5). Pseudogenisierte Gene, die Komponenten der DNA-Reparatur kodierten, wurden nicht identifiziert. Das Genom des jungen Endsymbionten der Amöbe *Paulinella chromatophoras* kodiert *RecA* und *RecF*, nichtsdestotrotz fehlen zahlreiche Gene der Exzisionsreparatur (Tabelle 3-1-1; Nowack et al. 2008). Die degenerativen Umstrukturierungen die DNA-Reparatur betreffend sind also besonders deutlich in *Buchnera aphidicola* ausgeprägt, gefolgt vom Chromatophor. Im Gegensatz dazu scheinen die Sphäroidkörper und auch *Sodalis glossinidius* noch ein intaktes DNA-Reparatursystem zu besitzen. Als wichtigste Ursache dieser unterschiedlich stark ausgeprägten degenerativen Umstrukturierungen ist das Alter der Symbiosen zu nennen: *Buchnera aphidicola* lebt seit 200 bis 250 Millionen Jahre in Symbiose, das Chromatophor seit vermutlich 60 Millionen Jahren und *Sodalis glossinidius* seit 50 bis 100 Millionen Jahren (Dale et al. 2003, Nowack et al. 2008). Dieser Argumentation folgend sind die Sphäroidkörper evolutionär jungen Endosymbionten zuzuordnen.

Tabelle 3-1-1: Identifizierte DNA-Reparatursysteme der Sphäroidkörper, *Cyanothece* sp. ATCC 51142, *Sodalis glossinidius*, des Endosymbionten *Paulinella chromatophoras* und *Buchnera aphidicolas* sp. APS. * Im Genom der Sphäroidkörper wurde bisher nur *uvrC* identifiziert.

	<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	Sphäroidkörper	<i>Sodalis</i> <i>glossinidius</i>	Endosymbiont <i>Paulinella</i> <i>chromatophoras</i>	<i>Buchnera</i> <i>aphidicola</i> sp. APS
RecA	+	+	+	+	-
RecF	+	+	+	+	-
UvrABC	+	+	+	-	-

Posttranslational modification, protein turnover, chaperones

Eine besondere Bedeutung bei der Etablierung eines endosymbiontischen Lebensstils kommt dem GroEL/GroES-Chaperonin-System, das der Kategorie *Posttranslational modification, protein turnover, chaperones* zugeordnet wurde, zu. Das GroEL/GroES-Chaperonin-System wird in *Buchnera aphidicola* und anderen Endosymbionten konstitutiv überexprimiert und macht beispielsweise 10% des gesamten Proteinpools in *Buchnera aphidicola* aus (Fares et al. 2004). Dabei nimmt das GroEL/GroES-Chaperonin-System keine Funktion mehr im Zusammenhang mit Hitzestress ein. Vielmehr wird angenommen, dass es die Faltung der durch die Akkumulierung von Mutationen instabilen endosymbiontischen Proteine unterstützt (Baumann et al. 1996). Erleichtert wird dies auch von der adaptiven Evolution GroELs, dass die Interaktion mit dem von zahlreichen Mutationen gekennzeichneten endosymbiontischen Proteom verbessert (Fares et al. 2004). Man unterscheidet zwei verschiedene Formen von GroEL, wobei GroEL1 zusammen mit GroES in einem Operon kodiert wird. Beide Formen von GroEL kennt man bisher nur aus photosynthetisch aktiven Pro- und Eukaryoten, beispielsweise kodiert der photosynthetisch nicht mehr aktive Erreger der Malaria *Plasmodium falciparum* nur GroEL2 (Zauner et al. 2006). Das legte die Vermutung nahe, dass auch in den Sphäroidkörpern, die photosynthetisch nicht mehr aktiv zu sein scheinen, nur eine Form von GroEL zu finden ist. Nichtsdestotrotz wurden im Genom der Sphäroidkörper beide Formen von GroEL identifiziert (Kapitel 2.1.5). Das lässt, dem Zusammenhang zwischen der Photosynthese und dem Besitz, insbesondere von GroEL1 folgend, einerseits die Annahme zu, dass die Sphäroidkörper unlängst noch photosynthetisch aktiv waren. Andererseits ist nicht auszuschließen, dass das GroEL/GroES-Chaperonin-System unabhängig von der Photosynthese eine andere wichtige Funktion in den Sphäroidkörpern einnimmt. Das könnte beispielsweise für die Assemblierung des aus zahlreichen Komponenten aufgebauten Nitrogenase-Komplexes gelten. Ähnliches lassen Analysen aus *Synechocystis* PCC 6803 vermuten. Danach ist eventuell insbesondere GroEL2 für die Assemblierung der in diesem Fall photosynthetischen Proteinkomplexe nötig (Glatz et al. 1997).

Neben dem GroEL/GroES-Chaperonin-System kennzeichnen einige Proteasen (z. B. ClpP) und ein Chaperon (DnaJ) die Kategorie *Posttranslational modification, protein turnover, chaperones*. Beide kommen nicht nur als putativ aktive, sondern auch als pseudogenisierte Gene vor und unterstützen damit die Annahme, dass das

Genom der Sphäroidkörper in Folge der Koevolution von degenerativen Umstrukturierungen geprägt ist (Kapitel 2.1.5). Diese degenerativen Umstrukturierungen umfassen hier die Pseudogenisierung individueller Loci. Letztlich bedingt diese Pseudogenisierung eine Reduktion des Genoms der Sphäroidkörper.

Koenzym B₁₂

Das Koenzym B₁₂ wird ausschließlich von Prokaryoten synthetisiert und bildet damit die physiologische Grundlage für die Assoziation prokaryotischer Endosymbionten und ihrem eukaryotischen Wirt. Als Beispiel sei hier die Symbiose zwischen *Wigglesworthia glossinidia* und der Tsetsefliege genannt: *Wigglesworthia glossinidia* synthetisiert das Koenzym B₁₂ und stellt es für seinen eukaryotischen Wirt bereit (Akman et al. 2002).

Die physiologische Grundlage der *Rhopalodia gibba* – Sphäroidkörper Assoziation ist in der Fixierung molekularen Stickstoffs seitens der Sphäroidkörper zu suchen. Nichtsdestotrotz kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Sphäroidkörper zusätzlich das Koenzym B₁₂ für ihren eukaryotischen Wirt bereitstellen. Der Analyse des bereits sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper folgend sind aber zumindest zwei Proteine der Koenzym B₁₂-Synthese, die *precorrin-8X methylmutase* und die *CobN/magnesium chelatase*, letztere wurde schon im Zusammenhang mit der Photosynthese vorgestellt, pseudogenisiert (Kapitel 2.1.5). Dabei vermittelt die Kobaltchelatase (CobN) als Enzym der Koenzym B₁₂-Synthese den Einbau von Kobalt. Die Magnesiumchelatase ist für den Einbau von Magnesium in den Porphyrinring des Chlorophylls verantwortlich. Beide sind in ihrer Sequenz und vermutlich auch in ihrer Struktur ähnlich (Warren et al. 2002). Das Genom des frei lebenden Cyanobakteriums *Cyanothece* sp. ATCC 51142 kodiert zwei Magnesium- und eine Kobaltchelatase, zusätzlich findet man in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 zwei Precorrin-8X Methylmutasen. Das lässt die Vermutung zu, dass aktive Homologe in den Sphäroidkörpern die beiden durch Pseudogenisierung inaktivierten Enzyme der Koenzym B₁₂-Synthese ersetzen. Die Identifizierung putativ aktiver Enzyme der Koenzym B₁₂-Synthese im Genom der Sphäroidkörper stützt diese Vermutung. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Koenzym B₁₂-Synthese der Sphäroidkörper nicht mehr funktionell ist, so dass auch die Inaktivierung der

identifizierten putativ aktiven Proteine droht. Letztlich bleibt auch hier nur, die Sequenzierung des Genoms der Sphäroidkörper in seiner Gänze abzuwarten.

Cell motility

Die Kategorie *Cell motility* beinhaltet nur zwei Gene, eines dieser Gene ist putativ pseudogenisiert. Dabei entsprechen beide einem *Methyl-accepting chemotaxis protein* (Kapitel 2.1.5). Chemotaxis meint die gezielte Bewegung hin zu oder weg von einem Stimulus. Diese chemotaktische Bewegung bietet in einem intrazellulären Habitat keinen Vorteil mehr, der Selektionsdruck nimmt ab, letztlich folgt die Inaktivierung des gesamten Gens. Das lässt die Vermutung zu, dass die Inaktivierung chemotaktischer Proteine ein Charakteristikum zahlreicher Endosymbionten ist. Während Analysen des Genoms *Buchnera aphidicolas* betreffend diese Vermutung unterstützen, zeigen die Sequenzdaten *Sodalis glossinidius* den Verbleib chemotaktischer Proteine auf. Nichtsdestotrotz ist *Sodalis glossinidius* genauso wie *Buchnera aphidicola* nicht in der Lage, sich selbständig fortzubewegen (Toh et al. 2006, Shigenobu et al. 2000).

Defense mechanism

Die Kategorie *Defense mechanism* umfasst nur 1% aller bereits identifizierten putativ aktiven Proteine der Sphäroidkörper. Zudem verdeutlicht der Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142, dass diese Kategorie für die Endosymbionten an Bedeutung verloren hat (Kapitel 2.1.5). Dieser Verlust an Bedeutung lässt sich mit dem endosymbiontischen Leben in dem geschützten Habitat der Wirtszelle erklären. Danach sind Abwehrmechanismen obsolet. Entsprechend kodiert *Sodalis glossinidius* keine Proteine, die *multidrug resistance* vermitteln (Toh et al. 2006). Nichtsdestotrotz vermitteln putativ aktive Proteine der Sphäroidkörper genau diese *multidrug resistance*. Dabei kann nicht ausgeschlossen werden, dass gerade diese Proteine als Transporter von besonderer Bedeutung für die Assoziation zwischen *Rhopalodia gibba* und seinen Sphäroidkörpern ist.

Nucleotide transport and metabolism

In der Kategorie *Nucleotide transport and metabolism* wurden bisher keine Pseudogene identifiziert. Auch der Vergleich des metabolischen Profils der Sphäroidkörper mit dem Profil ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 hebt die Bedeutung der Kategorie *Nucleotide transport and metabolism* für die Endosymbionten hervor (Kapitel 2.1.5). Vergleichbares ist aus *Wigglesworthia glossinidia* bekannt. So kodiert das Genom *Wigglesworthia glossinidia* nahezu alle Enzyme der Nukleotidbiosynthese (Akman et al. 2002). Im Gegensatz dazu sind den Endosymbionten unterschiedlichster Blattflöhe, *Carsonella ruddii*, genauso wie dem intrazellulär lebenden Pathogenen *Rickettsia prowazekii* keine Proteine zu eigen, die im Zusammenhang mit der Bioynthese von Nukleotiden zu nennen sind (Nakabachi et al. 2006, Akman et al. 2002). *Wigglesworthia glossinidia* lebt seit 40 Millionen Jahren in Endosymbiose mit der Tsetsefliege, die Assoziation zwischen beiden Organismen ist also als jung zu bezeichnen (Moran und Wernegreen 2000). Das lässt die Vermutung zu, dass die Enzyme der Nukleotidbiosynthese in Folge der jungen Assoziation noch nicht inaktiviert sind. Danach sind auch die Sphäroidkörper *Rhopalodia gibbas* evolutionär jungen Endosymbionten zuzuordnen.

Pseudogene

Die funktionellen Kategorien *Transcription, Translation, ribosomal structure and biogenesis, Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning, Defense mechanism* und *Nucleotide transport and metabolism* umfassen keine Pseudogene (Kapitel 2.1.5). Dabei darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass bisher nur wenige putativ aktive Proteine diesen Kategorien zugeordnet wurden, sieht man von der Kategorie *Translation, ribosomal structure and biogenesis* ab, die 7% aller putativ aktiven Proteine umfasst. So macht die die Kategorie *Nucleotide transport and metabolism* 4% und die Kategorie *Transcription* 3% des bis dato analysierten Proteoms der Sphäroidkörper aus. Nur je 1% aller putativ aktiven Proteine wurden den Kategorien *Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning* und *Defense mechanism* zugeordnet. Um festzustellen, ob diese Kategorien Pseudogene enthalten oder nicht, bleibt letztlich, nach Generierung weiterer Sequenzdaten, nur die Analyse des Genoms der Sphäroidkörper in seiner Gänze.

Zusammenfassend unterscheidet sich das metabolische Potential der Sphäroidkörper in seinem Leistungsvermögen deutlich vom metabolischen Potential seines nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142. Dabei zeigen die vergleichenden Analysen der Genome Veränderungen auf, die die Entwicklung des endosymbiontischen Genoms in Folge der Koevolution betreffen. Die Fitness der Endosymbionten beruht dabei nicht nur auf ihrer eigenen Replikation und Transmission sondern auch auf dem Erfolg ihres eukaryotischen Wirts (Wernegreen 2002). Das lässt die Vermutung zu, dass die Sphäroidkörper an der biologischen Stickstofffixierung festhalten, da diese für das Überleben und die Reproduktion ihres eukaryotischen Wirts von Vorteil ist. Degenerative Umstrukturierungen des Genoms der Sphäroidkörper betreffend zeigt die Deletion unterschiedlichster Gene auf. Dies umfasst nicht nur individuelle Loci sondern auch ganze Stoffwechselwege, beispielsweise die Photosynthese, die Milchsäuregärung und die Biosynthese von GDP-L-Fucose. Auffällig ist auch, dass einige Charakteristika junger Endosymbionten mit denen der Sphäroidkörper übereinstimmen. Das gilt beispielsweise für das DNA-Reparatursystem und die Nukleotidbiosynthese.

3.1.2 G/C-Gehalt und Kodon-Nutzung im Sphäroidkörper

Der G/C-Gehalt des bereits sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper beträgt 35% und unterscheidet sich damit nur geringfügig von dem G/C-Gehalt des Genoms ihres nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 mit 37,9% (Tabelle 3-1-2, Kapitel 2.1.2). Dabei gilt ein geringer G/C-Gehalt als Charakteristikum der Genome intrazellulärer Symbionten und Pathogenen (z. B. *Carsonella rudii* mit 16,5%; Nakabachi et al. 2006). Nichtsdestotrotz sind Genome insbesondere junger intrazellulärer Symbionten und Pathogenen mit relativ hohem G/C-Gehalt beschrieben, als Beispiele sei hier das Genom des Endosymbionten *Sodalis glossinidius* mit einem G/C-Gehalt von 54,5 % genannt (Toh et al. 2006). Dabei gilt es, wenn möglich, den G/C-Gehalt des frei lebenden Verwandten als Referenz heranzuziehen. So kennzeichnet beispielsweise das Genom des jungen Endosymbionten *Paulinella chromatophora* einen G/C-Gehalt von 38%, dieser entspricht in etwa dem des bis dato sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper mit 35%. Der frei lebende Verwandte des Chromatophors ist das Cyanobakterium

Tabelle 3-1-2: G/C-Gehalt der Genome frei lebender Cyanobakterien und bakterieller Endosymbionten. Bakterielle Endosymbionten sind mit * gekennzeichnet. Die Daten wurden Nowack et al. und IMG entnommen (Nowack et al. 2008, Markowitz et al. 2010).

Spezies	G/C-Gehalt (%)
*Sphäroidkörper	35
<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	37,9
<i>Cyanothece</i> sp. CCY 0110	36,7
<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	39,8
<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	37,1
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 6301	55,5
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	47,4
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	53,9
* <i>Buchnera aphidicola</i> APS	26,4
* <i>Carsonella ruddii</i>	16,6
*Endosymbiont von <i>Paulinella chromatophora</i>	38
* <i>Sodalis glossinidius</i>	54,5
* <i>Wigglesworthia glossinidia</i>	22,5

Synechococcus sp. WH 5701 mit einem G/C-Gehalt von 65% (Nowack et al. 2008). Der G/C-Gehalt des Endosymbionten *Paulinella chromatophora* hat sich also in Folge der Koevolution um 27% reduziert. Das unterscheidet ihn eindeutig von den Sphäroidkörpern, die ein G/C-Gehalt charakterisiert, der im Vergleich zu seinem frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 nur um etwa 3% reduziert ist.

Die Tendenz zu A/T ist in reduzierten Genomen besonders stark in den nicht kodierenden Regionen und an der dritten Kodonposition ausgeprägt (Bentley und Parkhill 2004). So hat eine Tendenz hin zu A/T in nicht kodierenden Regionen keine Drift in der Kodon- und Aminosäureverwendung zur Folge. Als weitere Ursache ist die Kodonredundanz zu nennen: Auf Grund der Redundanz des genetischen Codes ist es möglich, A oder T an der dritten Position zu verwenden, ohne die Aminosäure auszutauschen. Entsprechend weist auch das bisher sequenzierte Genom der Sphäroidkörper besonders in den nicht kodierenden Regionen und an der dritten Kodonposition einen A/T-Bias auf: Der G/C-Gehalt der nicht kodierenden Regionen macht 30% aus, 29% der dritten Kodonposition sind G und C zuzuordnen (Tabelle 3-1-3, Kapitel 2.1.3). Das unterscheidet die Sphäroidkörper auch relativ deutlich von ihrem nächsten frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 mit einem G/C-Gehalt von 34,9% und 34,8% in den nicht kodierenden Regionen bzw. an der dritten Kodonposition.

Tabelle 3-1-3: G/C-Gehalt der drei Kodonpositionen in kodierenden Regionen der Genome frei lebender Cyanobakterien und bakterieller Endosymbionten. Bakterielle Endosymbionten sind mit * gekennzeichnet. Die Daten wurden der *Codon Usage Database* entnommen (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>, Kazusa DNA Research Institute, Kisarazu, Japan).

Spezies	G/C-Gehalt der Kodonpositionen (%)		
	1.	2.	3.
*Sphäroidkörper	50%	38%	29%
<i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142	51,3	38,9	34,8
<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	53,8	41,4	38,8
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 6301	63,9	44,1	60,4
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	55,8	39,7	49,2
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	61,9	43,0	62,2
* <i>Buchnera aphidicola</i> APS	37,4	30,6	14,3
* <i>Carsonella ruddii</i>	19,5	20,4	6,9
* <i>Sodalis glossinidius</i>	61,1	42,1	65,0
* <i>Wigglesworthia glossinidia</i>	30,9	28,2	11,9

Die Tendenz zu A/T betrifft aber nicht nur die dritte sondern zwangsläufig auch die erste und zweite Kodonposition, sofern dies nicht durch die auf die Proteinfunktion wirkende Selektion verhindert wird. Diese Drift in der Kodonnutzung hat somit auch eine Drift in der Aminosäureverwendung zur Folge, das gilt insbesondere für die erste und zweite Kodonposition (Bentley und Parkhill 2004). So sind die Proteine sehr alter intrazellulärer Symbionten und Pathogenen zumeist stark von einer Tendenz zu A/T beeinflusst. Beispielsweise zeigt *Buchnera aphidicola* eine Tendenz hin zu Aminosäuren, die von A/T-reichen Kodons kodiert werden, wie Isoleucin (AT T/C/A) und Lysin (AA A/G; Clark et al. 1999). Diese Tendenz kann negative Auswirkungen auf die Proteinstruktur und –stabilität haben oder, im Extremfall, die Funktionalität des Proteins stören. Dieser Umstand lässt sich am besten mit dem Konzept *Muller's ratchet* erklären (Wernegreen 2002). Danach häufen Symbionten, die isoliert vom Genpool ihrer frei lebenden Verwandten leben, Mutationen im Genom an, so dass die genetische Fitness innerhalb dieser sich asexuell vermehrenden Population durch eine geringe Populationsgröße und fehlende Möglichkeiten zur Rekombination stetig abnimmt (Muller 1964, Andersson und Kurland 1998).

Die kodierenden Regionen des bereits sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper unterscheiden sich mit einem G/C-Gehalt von 39% kaum von den kodierenden Regionen *Cyanothece* sp. ATCC 51142 (41,6%; Kapitel 2.1.3). Dennoch scheint auch in dem bisher sequenzierten Genom der Sphäroidkörper bezüglich seiner verwendeten Kodons eine Tendenz hin zu A/T zu bestehen. Beispielsweise wird bei den Aminosäuren Tyrosin, Asparagin und Phenylalanin eindeutig das A/T-reichere Kodon bevorzugt. Darüber hinaus verwenden die Sphäroidkörper den bis

dato durchgeführten Analysen zu Folge tendenziell eher Aminosäuren, die von A/T-reichen Kodons kodiert werden. Als Beispiel sei hier die Aminosäure Isoleucin genannt (Kapitel 2.1.4).

Die Ursache dieser Tendenz zu A/T ist unbekannt. Nach Dufresne et al. bietet ein A/T-reiches Genom eine Möglichkeit an, Stickstoff einzusparen (Dufresne et al. 2005). Grundlage ihrer Hypothese ist, dass ein A/T-Basenpaar nur sieben Stickstoffatome und damit ein Stickstoffatom weniger als ein G/C-Basenpaar besitzt. Dennoch scheint dies die Abnahme des G/C-Gehalts im bisher sequenzierten Genom der Sphäroidkörper, insbesondere die nicht kodierenden Regionen und die dritte Kodonposition betreffend, nicht zu erklären: Die Sphäroidkörper selbst sind in der Lage molekularen Stickstoff zu fixieren.

Alternativ wird ein Zusammenhang zwischen dem generellen Verlust von Genen, die Proteine der DNA-Reparatur kodierten und dem geringen G/C-Gehalt intrazellulärer Symbionten diskutiert (Wernegreen 2002). Grundlage dieser Hypothese ist, dass eine häufige spontane Mutation in Genomen C zu T ist. Dabei wird Cytosin zu Uracil deaminiert und dieses anschließend als Thymin repliziert und auf Grund fehlender Reparaturmechanismen akkumuliert (Knippers 2001). Unterstützung erfährt diese Hypothese nicht nur durch den niedrigen G/C-Gehalt *Buchnera aphidicolas* bei einem generellem Verlust von Genen, die Proteine der DNA-Reparatur kodieren, sondern auch durch den hohen G/C-Gehalt *Sodalis glossinidius* vor dem Hintergrund eines verfügbaren DNA-Reparatursystems (Shigenobu et al. 2000, Toh et al. 2006).

Im Gegensatz dazu sprechen 1. der reduzierte G/C-Gehalt im Genom des Endosymbionten *Paulinella chromatophoras* und 2. die Deaminierung der dritten Kodonposition im Genom der Sphäroidkörper gegen einen Zusammenhang von DNA-Reparatursystem und geringem G/C-Gehalt. Zu Punkt 1: Ein Charakteristikum des Endosymbionten *Paulinella chromatophoras* ist sein deutlich reduzierter genomischer G/C-Gehalt. Dennoch kodiert das Chromatophor in seinem Genom einige Komponenten der DNA-Reparatur, dazu gehören unter anderem RecA und RecF (Nowack et al. 2008). Zu Punkt 2: Die Sphäroidkörper reparieren die Deaminierung der dritten Kodonposition, zumindest im Fall stummer Mutationen, trotz verfügbarer Komponenten des DNA-Reparatursystems (z. B. RecA und RecF) nicht. Dabei bevorzugen die Sphäroidkörper in der Regel T bzw. U an der dritten Stelle eines Kodons, betrachtet man die von zwei Kodons kodierten Aminosäuren mit C oder T bzw. U an der dritten Stelle eines Kodons. Das gilt beispielsweise für die

Aminosäuren Tyrosin, Asparagin und Phenylalanin. Im Gegensatz dazu wird bei allen von zwei Kodons kodierten Aminosäuren mit G oder A an der dritten Stelle eines Kodons zumeist nicht dem A/T-reicheren Kodon der Vorrang gegeben, als Beispiele seien hier die Aminosäuren Glutamat und Glutamin genannt (Kapitel 2.1.4).

Nichtsdestotrotz darf nicht außer Acht gelassen werden, dass sich der G/C-Gehalt des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper mit 35% nur geringfügig von dem G/C-Gehalt des Genoms seines frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 mit 37,9% unterscheidet. Im Gegensatz dazu ist beispielsweise der G/C-Gehalt im Genom des alten Endosymbionten *Buchnera aphidicola* mit 26,3% im Vergleich zu dem G/C-Gehalt im Genom seines frei lebenden Verwandten *Escherichia coli* mit 50,8% sehr stark reduziert.

3.1.3 Pseudogene im Genom der Sphäroidkörper

Spezies, die sich unlängst zu intrazellulären Symbionten oder Pathogenen entwickelt haben, weisen in ihren Genomen eine große Anzahl an Pseudogenen auf. Dazu gehört neben den Sphäroidkörpern mit ihren bis dato 108 identifizierten Pseudogenen beispielsweise auch der junge intrazelluläre Symbiont *Sodalis glossinidius* mit 972 und das intrazelluläre Pathogen *Mycobacterium leprae* mit 1116 identifizierten Pseudogenen (Kapitel 2.1.2; Toh et al. 2006, Cole et al. 2001). Im Gegensatz dazu weisen sehr alte Endosymbionten wie *Buchnera aphidicola* in ihren Genomen keine oder nur sehr wenige Pseudogene auf.

Als Ursache dieser Pseudogene ist unter anderem die Anpassung der intrazellulären Organismen an ihr neues Habitat zu nennen, die verschiedene Genfunktionen überflüssig macht. Der daraus resultierenden Abnahme des Selektionsdrucks kann dann die Inaktivierung des gesamten Gens folgen (Dagan et al. 2006). Lawrence et al. diskutierten als weitere Ursache von Pseudogenen in intrazellulären Symbionten und Pathogenen eine Reduktion der allgemeinen Rate chromosomaler Deletion (Lawrence et al. 2001). So sind diese Organismen auf Grund ihrer intrazellulären Lebensweise Bakteriophagen, Transposasen und anderer horizontal transferierter DNA kaum noch ausgesetzt. Daher sind hohe chromosomale Deletionsraten, die den Influx von DNA durch lateralen Gentransfer in frei lebenden Bakterien ausgleichen, nicht von Vorteil, so dass die Deletionsrate vermindert werden kann, was dann eine Anhäufung von Pseudogenen erlaubt.

Silva et al. haben ein Modell vorgeschlagen, nachdem das Genom von *Buchnera aphidicola* einen kontinuierlichen und graduellen Prozess erfahren hat, der ein Gen nach dem anderen inaktivierte. Danach wurde die DNA-Sequenz, die dem Gen entsprach, nach und nach durch Mutationen und kleine Deletionen reduziert, so dass nur noch ein Teil der ursprünglichen Sequenz erhalten blieb. Diese war aber, auch bedingt durch einen starken A/T-Bias, nicht mehr als Pseudogen zu erkennen. Schließlich ging die ursprüngliche Sequenz komplett verloren (Silva et al. 2001).

Dieses Modell erfährt zum einen durch den Vergleich ausgewählter DNA-Abschnitte des Genoms der Sphäroidkörper mit korrespondierenden DNA-Abschnitten *Cyanothece* sp. CCY 0110, zum anderen von bereits generierten Sequenzen der Sphäroidkörper mit darin unregelmäßig verstreuten Pseudogenen Unterstützung. So weisen die Pseudogene des Genoms der Sphäroidkörper einen G/C-Gehalt von 34% auf (Kapitel 2.1.6). Dieser ist damit niedriger als der G/C-Gehalt kodierender Gene (39%), aber höher als der G/C-Gehalt nicht kodierender Regionen (30%; Kapitel 2.1.3). Die DNA der pseudogenisierten Gene wird also dem Modell entsprechend nicht nur durch Deletionen verkürzt, sondern sukzessive auch A/T-reicher (Kapitel 2.1.6). Pseudogene können dabei im Genom bestehen bleiben oder sie mutieren in so einem Maße, dass sie nicht länger als Homologe funktioneller Gene identifiziert werden können. Das betrifft vermutlich zahlreiche nicht kodierende Regionen: 121 dieser nicht kodierenden Regionen (36%) sind größer als 500 bp (Kapitel 2.1.3). Setzt man Syntenie voraus, fehlt beispielsweise das *Type III restriction enzyme*, das in *Cyanothece* sp. CCY 0110 zwischen *CY0110_24206* und *CY0110_24216* kodiert wird, in der korrespondierenden Sequenz des Sphäroidkörpers (Abbildung 2-1-7, Kapitel 2.1.6). Letztendlich werden diese nun nicht mehr kodierenden Regionen dem Modell entsprechend im weiteren Verlauf der Evolution des Genoms der Sphäroidkörper durch eine höhere Frequenz an Deletionen im Vergleich zu Insertionen in ihrer Gänze eliminiert. Das hat beispielsweise vermutlich zwischen der *adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase* und *CY0110_03874* im Genom der Sphäroidkörper stattgefunden, auch hier vorbehaltlich einer Syntenie zwischen den Genomen beider Organismen (Abbildung 2-1-7, Kapitel 2.1.6). Diese nicht kodierende Region macht nur noch 260 bp aus. Im Gegensatz dazu weist die 4458 bp umfassende korrespondierende Sequenz des Genoms *Cyanothece* sp. CCY 0110 sechs putativ aktive Gene auf.

Der Pseudogenisierung eines Gens folgt unter Umständen eine reduzierte Selektion. Das betrifft insbesondere solche Gene, deren Proteine mit dem nun inaktivierten Genprodukt interagierten, beispielsweise Gene, die Proteine des Stoffwechselweges kodieren, dem auch das mittels Pseudogenisierung inaktivierte Gen zugehörig war. Löst diese Abnahme des Selektionsdrucks eine umfassende Inaktivierung „abhängiger“ Gene aus, spricht man auch von der sogenannten Domino-Theorie (Dagan et al. 2006). Diese Domino-Theorie war vermutlich Ursache der Deletion von Photosynthese, Milchsäuregärung und GDP-L-Fucose-Biosynthese in den Sphäroidkörpern.

Nichtsdestotrotz beinhaltet das Genom der Sphäroidkörper putativ aktive und mittels Pseudogenisierung putativ inaktivierte Gene ein und desselben Stoffwechselweges. Als Beispiel sei hier die Koenzym B₁₂-Synthese genannt. Dies erlaubt zwar die Reduzierung und Optimierung des endosymbiontischen Genoms mittels Inaktivierung einzelner Loci, dennoch wird die Funktion des Stoffwechselweges aufrechterhalten.

3.1.4 IS-Elemente im Sphäroidkörper

Neben der hohen Anzahl an Pseudogenen ist ein weiteres Charakteristikum junger Symbionten und Pathogenen die, im Vergleich zu ihren frei lebenden Verwandten, Anwesenheit zahlreicher IS-Elemente. Dazu gehören beispielsweise die intrazellulären Pathogenen *Bordetella pertussis* und *Shigella flexneri*. Im Gegensatz dazu besitzen sehr alte Symbionten wie *Buchnera aphidicola* kaum IS-Elemente (Moran und Plague 2004).

Die Verbreitung von IS-Elementen geht dabei oft mit chromosomalen Reorganisationen, dem Verlust von Genen durch Deletionen und der Inaktivierung von Genen durch Insertionen einher und wird von zwei gegensätzlichen Kräften beeinflusst: Zum einen von ihrer Tendenz sich als „selbstsüchtige Gene“ zu vermehren, zum anderen von der Selektion gegen ihre Verbreitung. Diese Selektion wirkt gegen Genotypen mit Transpositionen, die die Funktion bestimmter Gene zerstört haben oder bevorzugt generelle genomische Mechanismen, die die Transposition unterdrücken (Moran und Plague 2004). Dieses Gleichgewicht wird durch die reduzierte Populationsgröße intrazellulärer Symbionten oder Pathogenen hin zu mehr Transpositionen verschoben, die durch genetische Drift fixiert werden

(Parkhill et al. 2003). Zusätzlich verringert die intrazelluläre Lebensweise die Möglichkeiten der horizontalen Weitergabe der Elemente (Moran und Plague 2004).

So wird wegen der nachlassenden Selektion auf redundante Proteinfunktionen in sehr jungen intrazellulären Symbionten und Pathogenen eine starke Zunahme der Elemente, in sehr alten Symbionten mit stark reduziertem Genom aber die Inaktivierung und der Verlust der Elemente erwartet, da die Möglichkeiten der horizontalen Ausbreitung fehlen (Moran und Plague 2004).

In den Sphäroidkörpern wurden bisher 17 putative Transposasen identifiziert, davon sind 16 inaktiviert (Kapitel 2.1.5). Das frei lebende Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 besitzt 99 Transposasen. Dabei kodieren nur 26 dieser Transposasen einen offenen Leserahmen. Die übrigen sind durch Mutationen, beispielsweise Leserahmenwechsel, Deletionen und die Aufnahme anderer IS-Elemente inaktiviert (Kaneko et al. 1996). Damit ist die Dichte, die die Anzahl an Transposasen pro kb beschreibt, aller identifizierbaren Transposasen in den Sphäroidkörpern höher, die Dichte der aktiven Transposasen aber sehr viel geringer als in *Synechocystis* sp. PCC 6803. Diese geringe Dichte aktiver Transposasen in Kombination mit einer hohen Dichte inaktiver Transposasen lässt die Annahme zu, dass die IS-Elemente im Genom der Sphäroidkörper unlängst zugenommen haben und nun sukzessive inaktiviert und eliminiert werden.

3.1.5 Genomgröße der Sphäroidkörper

Die Genome sehr alter intrazellulärer Bakterien und obligater Pathogenen sind zumeist extrem reduziert. Beispiele sind die Genome von *Carsonella ruddii* (160 kb), *Mycoplasma genitalium* (580 kb) und *Buchnera aphidicola* (641 kb; Nakabachi et al. 2006, Fraser et al. 1995, Shigenobu et al. 2000).

Silva et al. haben angenommen, dass reduzierte Genome einen kontinuierlichen und graduellen Prozess erfahren haben, der ein Gen nach dem anderen inaktivierte (Silva et al. 2001). Die bereits generierten Sequenzdaten der Sphäroidkörper und anderer sequenzierter Endosymbionten und Pathogenen, beispielsweise von *Sodalis glossinidius* und *Mycobacterium leprae* mit Hunderten von Pseudogenen verstreut im Genom, bestätigen diese Annahme (Kapitel 2.1.6; Toh et al. 2006, Cole et al. 2001). Im Gegensatz dazu haben Moran und Mira vorgeschlagen, dass die Genomreduktion durch wenige Deletionen großer zusammenhängender Regionen im Zusammenhang mit der Reorganisation von

Chromosomen verursacht wird (Moran und Mira 2001). Grundlage ihrer Überlegungen war ein Vergleich der Genome von *Buchnera aphidicola* und *Escherichia coli*, dem nächsten frei lebenden Verwandten *Buchnera aphidicolas*. Dabei konnten sie zeigen, dass große Fragmente, die im Genom *Escherichia coli* vorhanden sind, im Genom von *Buchnera aphidicola* fehlen. Entsprechendes zeigt auch das genomische Alignment ausgewählter Regionen der Sphäroidkörper mit *Cyanothece* sp. CCY 0110: Setzt man Syntenie zwischen beiden Genomen voraus, scheinen zwischen den Homologen der *adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase* und des *hypothetical protein CY0110_03874* im Sphäroidkörper sechs Gene eliminiert zu sein (Abbildung 2-1-7, Kapitel 2.1.6). Unterstützung erfährt dieses Szenario zudem von experimentellen Daten, die die Deletion großer DNA-Abschnitte im Pathogenen *Salmonella enterica* gezeigt haben (Nilsson et al. 2005). Nichtsdestotrotz darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass auch eine kontinuierliche und graduelle Inaktivierung nebeneinander liegender Gene letztlich die Entstehung großer fehlender Fragmente im Genom bedingt (Silva et al. 2001).

Die experimentelle Bestimmung der Genomgröße vom Sphäroidkörper wird durch die außergewöhnliche Stabilität der *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation und die limitierte Menge intakter und reiner Sphäroidkörper, die aus *Rhopalodia gibba* isoliert werden können, erschwert. So blieb letztlich nur die theoretische Abschätzung der Genomgröße. Die Grundlage dafür bildete eine Studie von Khachane et al., die sich mit der Dynamik reduktiver Evolution in Mitochondrien und obligat intrazellulären Bakterien befasst hat und dabei einen exponentiellen Zusammenhang zwischen der Genomgröße und dem G/C-Gehalt der 16S rDNA in Mitochondrien und obligat intrazellulären Bakterien ausgemacht hat (Khachane et al. 2007). Dabei tendieren die großen Genome der im Boden lebenden Bakterien zu einem hohen G/C-Gehalt und die reduzierten Genome obligater intrazellulärer Bakterien zu einem hohen A/T-Gehalt (Bentley und Parkhill 2004). Das Genom der Sphäroidkörper umfasst nach dieser Abschätzung 2,6 Mbp, das ihres frei lebenden Verwandten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 5,5 Mbp (Kneip et al. 2008, Welsh et al. 2008). Danach hätte sich das Genom der Sphäroidkörper in Folge der Koevolution um etwa die Hälfte reduziert.

3.1.6 Alter der *Rhopalodia gibba* - Sphäroidkörper Assoziation

Der Entwicklung einer symbiotischen Beziehung folgend, findet man in bakteriellen Genomen diverse Veränderungen (Abbildung 3-1-1). In Bakterien, die sich unlängst zu intrazellulären Symbionten oder Pathogenen entwickelt haben, betreffen diese Veränderungen unter anderem das Auftreten einer großen Anzahl an Pseudogenen und IS-Elementen (Dale et al. 2003). Im Gegensatz dazu charakterisieren unter anderem der Verlust wichtiger Komponenten der DNA-Reparatursysteme und die extreme Reduktion des Genoms bei gleichzeitiger Zunahme des A/T-Gehalts sehr alte Symbionten und Pathogenen. Die im Genom der Sphäroidkörper aufgetretenen Veränderungen lassen sich als Ganzes nicht eindeutig einer frühen oder späten Symbiose zuordnen. Beispielsweise kodieren die Sphäroidkörper neben einer aktiven auch einige inaktivierte Transposasen. Auch der G/C-Gehalt des Genoms der Sphäroidkörper unterscheidet sich kaum von *Cyanothece* sp. ATCC 51142. Dabei bleibt zu berücksichtigen, dass das frei lebende Cyanobakterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142 mit 37,9% schon an sich einen geringen G/C-Gehalt aufweist und damit möglicherweise eine signifikante Reduktion des G/C-Gehalts, ohne die Funktionalität der Proteine zu gefährden, erschwert wird. Dennoch tendiert das Genom der Sphäroidkörper in nicht kodierenden Regionen und an der dritten Kodonposition zu A/T und unterscheidet sich damit vom evolutionär jungen Endosymbionten *Sodalis glossinidius*. Entsprechendes gilt auch für die Genomgröße: Mit prognostizierten 2,6 Mbp ist das Genom der Sphäroidkörper eindeutig, aber bei weitem nicht so stark wie die Genome sehr alter Endosymbionten, beispielsweise *Buchnera aphidicola*, reduziert.

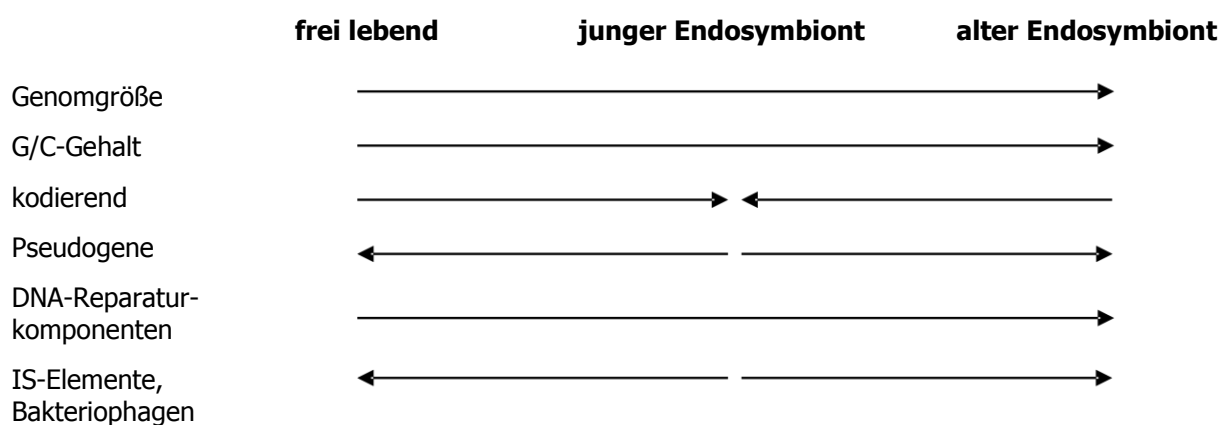


Abbildung 3-1-1: Umstrukturierungen im endosymbiontischen Genom im Zuge der Koevolution. → : Abnahme.

Der Anteil an nicht kodierenden Regionen des Genoms der Sphäroidkörper ist mit 41% im Vergleich zu dem Genom des frei lebendenden *Cyanothece* sp. ATCC 51142 (14%) stark erhöht. Das Genom des Endosymbionten *Sodalis glossinidius* weist mit 49,1% einen dem Genom der Sphäroidkörper entsprechend stark erhöhten Anteil an nicht kodierenden Regionen auf (Toh et al. 2006). Im Gegensatz dazu besitzt das stark reduzierte Genom des obligaten Symbionten *Buchnera aphidicola* nur 15% nicht kodierende Regionen (Moran und Mira 2001). Diesem Ergebnis und auch der großen Anzahl an Pseudogenen und den vermutlich intakten Reparatursystemen folgend scheinen die Sphäroidkörper ein eher junger Symbiont zu sein. Gestützt wird dies auch vom erstmaligen Auftreten *Epithemias* fossilen Funden zu Folge im Miozän, also vor etwa sieben bis 22,5 Millionen Jahren: *Epithemia* gehört zusammen mit *Rhopalodia* zur Familie der Epithemiaceae (Simonsen 1979).

3.1.7 Der Sphäroidkörper als Stickstoff fixierendes Organell?

Die korrekte Definition eines Organells wird zurzeit intensiv diskutiert. Ursache dieser Debatte sind die als Chromatophor bezeichneten photosynthetisch aktiven Einschlüsse der Amöbe *Paulinella chromatophora* (Nowack et al. 2008). Nach einigen Autoren sind diese Einschlüsse als Organell zu bezeichnen, andere fordern zusätzlich einen Transfer von Genen in den Nukleus, deren Produkte in das Organell zurücktransportiert werden (Douglas und Raven 2003, Bhattacharya und Archibald 2006, Theissen und Martin 2006). Dabei unterstützt das als *expressed sequence tag* inklusive poly(A)-Schwanz und Introns identifizierte und vermutlich in den Nukleus von *Paulinella chromatophora* transferierte Gen *psaE*, das ein Protein des Photosystem I kodiert, die Charakterisierung der photosynthetisch aktiven Einschlüsse als Organell (Nakayama und Ishida 2009). Nichtsdestotrotz steht der Nachweis des Rücktransports von PsaE in das Chromatophor noch aus.

Es gibt einige populäre Hypothesen, die den Transfer der Gene in den Nukleus erklären. Demnach könnte es für ein Gen einfacher sein, sich vom Organell zum Nukleus zu bewegen als umgekehrt (Berg und Kurland 2000, Selosse et al. 2001). Zudem führt der haploide asexuelle Lebensstil entweder in Folge reduzierter Selektionseffizienz oder in Folge des Einflusses von *Muller's ratchet* wahrscheinlich zur Fixierung von schädlichen Mutationen in den Genomen der Organellen (Berg und Kurland 2000). Daneben werden nützliche Mutationen möglicherweise schneller im von Rekombination profitierenden Kerngenom fixiert (Blanchard und Lynch 2000).

Der Gentransfer in den Nukleus ist vermutlich für die intrazellulären Bakterien der Insekten nicht von Bedeutung, weil diese Bakterien in einem spezialisierten Zelltyp leben, der nicht mit den Keimzellen assoziiert ist (Douglas und Raven 2003). Nichtsdestotrotz hat der Endosymbiont zahlreicher Insekten, das γ -Proteobakterium *Wolbachia*, ein etwa 11 kb großes Fragment seiner DNA in das Kerngenom des Käfers der Adzukibohne, *Callosobruchus chinensis*, transferiert (Kondo et al. 2002). Entsprechendes gilt auch für den Endosymbionten der Blattlaus, das γ -Proteobakterium *Buchnera aphidicola* (Nikoh und Nakabachi 2009).

Die Symbiosen der Plastiden und Mitochondrien sind sehr viel älter als jede der bekannten Insekten-Bakterien-Symbiosen, so dass sehr viel mehr Gelegenheiten und/oder Zeit für einen Gentransfer vorhanden waren (Hoffmeister und Martin 2003). Dabei ist der Gentransfer von Organellen zum Nukleus sehr verbreitet. So hat eine Studie gezeigt, dass etwa 18% der im Nukleus kodierten Proteine von *Arabidopsis thaliana* cyanobakteriellen Ursprungs sind, also vom ursprünglichen Genom der Plastide stammen (Martin et al. 2002).

Trotz der jungen Assoziation zwischen den Sphäroidkörpern und *Rhopalodia gibba* ist ein Transfer von Genen aus dem Genom der Sphäroidkörper in den Nukleus *Rhopalodia gibbas* also nicht auszuschließen. Nichtsdestotrotz wurde ein entsprechender Transfer bisher nicht nachgewiesen.

3.2 Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern

Nach DeYoe et al. ist die Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle von der Stickstoffkonzentration des umgebenden Mediums abhängig (DeYoe et al. 1992). Danach nahm die Anzahl an Endosymbionten pro Diatomee mit Abnahme der Nitratkonzentration zu. Gleiches gilt für die im Rahmen dieser Arbeit im MBL-Medium kultivierten Diatomeen: Der relative Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit einem Sphäroidkörper nahm mit Zunahme der Nitratkonzentration zu, im Gegenzug nahm der relative Anteil an Zellen, die zwei und mehr Endosymbionten besitzen, mit Abnahme der Nitratkonzentration zu. Dagegen scheint die Anzahl an Sphäroidkörpern pro Diatomee, die im Medium nach Floener und Bothe kultiviert wurden, nicht zwingend von der Stickstoffkonzentration des umgebenden Mediums abhängig zu sein (Kapitel 2-2).

In diesem Zusammenhang darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass die Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle nur dann mit Abnahme

der Stickstoffkonzentration zunimmt, wenn die Phosphatkonzentration des umgebenden Mediums ausreichend ist. Ist das nicht der Fall, limitiert Phosphor vermutlich das Wachstum der Endosymbionten, die dann nicht mehr adäquat auf Veränderungen der Stickstoffkonzentration reagieren können (DeYoe et al. 1992). Dies gilt vermutlich auch für die im Medium nach Floener und Bothe mit 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultivierten *Rhopalodia gibba* Zellen. Danach nimmt beispielsweise der relative Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit einem Sphäroidkörper, die im Medium mit 0,06 mM Kalziumnitrat kultiviert wurden, im Vergleich zu Diatomeen mit einem Endosymbionten, die im Medium mit 1 mM Kalziumnitrat kultiviert wurden, ab, während der Anteil an Diatomeen mit zwei und mehr Endosymbionten zunimmt (Kapitel 2-2).

Tabelle 3-2-1: Verhältnis von N:P im Medium nach Floener und Bothe und im MBL-Medium.

	Verhältnis N:P	Verhältnis N:P
Medium nach Floener und Bothe	0,0075 mM K_2HPO_4	0,05 mM K_2HPO_4
ohne N	0 N:1 P	0 N:1 P
0,06 mM $Ca(NO_3)_2 \times 4 H_2O$	16 N:1 P	2,4 N:1P
1 mM $Ca(NO_3)_2 \times 4 H_2O$	266,7 N:1 P	40 N:1 P
4,4 mM $Ca(NO_3)_2 \times 4 H_2O$	1173,3 N:1P	176 N:1 P
0,1 mM $(NH_4)_2HPO_4$	1,9 N:1 P	1,3 N:1 P
1 mM $(NH_4)_2HPO_4$	2,0 N:1 P	1,9 N:1 P
MBL-Medium		
ohne N	0 N:1 P	
1 mM $NaNO_3$	20 N:1 P	
2 mM $NaNO_3$	40 N:1 P	

Liegen Stickstoff und Phosphor in einem molaren Verhältnis von 16 N:1 P vor, limitieren beide Elemente das Wachstum der Diatomee gleichermaßen (Redfield 1958). Danach ist Stickstoff im MBL-Medium ohne Nitrat, im Medium nach Floener und Bothe ohne Nitrat und mit 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat, im Medium nach Floener und Bothe mit 0,06 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat sowie im Medium nach Floener und Bothe mit 0,1 mM oder 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,0075 mM oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat vermutlich limitierend (Tabelle 3-2-1). Dies ist insofern interessant, da der Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit zwei und mehr Endosymbionten, die im Medium nach Floener und Bothe ohne Kalziumnitrat und mit 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat oder mit 0,06 mM Kalziumnitrat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, mit

mindestens 90% außerordentlich hoch ist. Gleiches gilt für Diatomeen, die im Medium nach Floener und Bothe mit 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden. Auch der Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit zwei und mehr Endosymbionten, die im MBL-Medium ohne Nitrat oder im Medium nach Floener und Bothe ohne Nitrat und mit 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, ist höher als der Anteil an Diatomeen, die einen Sphäroidkörper enthalten (Kapitel 2-2). Die Zunahme der Anzahl an Endosymbionten mag dabei eine Reaktion *Rhopalodia gibbas* auf das limitierte Stickstoffangebot im umgebenden Medium sein. Dennoch darf nicht außer Acht gelassen werden, dass diese vermutlich vom Stickstoffangebot des umgebenden Mediums abhängige Zunahme der Anzahl an Sphäroidkörpern nicht alle ohne ausreichendes Stickstoffangebot kultivierten *Rhopalodia gibba* Zellen gleichermaßen betrifft. So ist der Anteil an Zellen mit zwei und mehr Endosymbionten in Diatomeen, die im Medium nach Floener und Bothe mit 0,1 mM oder 1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat und im Medium nach Floener und Bothe mit 0,1 mM di-Ammoniumhydrogenphosphat und 0,005 mM di-Kaliumhydrogenphosphat kultiviert wurden, geringer als der Anteil an *Rhopalodia gibba* Zellen mit einem Sphäroidkörper (Kapitel 2-2).

Im MBL-Medium mit einer Konzentration von 1 mM Natriumnitrat und im Medium nach Floener und Bothe mit einer Konzentration von 0,06 mM Kalziumnitrat und 0,0075 mM di-Kaliumhydrogenphosphat limitieren sowohl Stickstoff und als auch Phosphor das Wachstum *Rhopalodia gibbas*. In allen anderen Fällen scheint Phosphor der limitierende Faktor zu sein (Tabelle 3-2-1). Dabei limitiert Phosphor nicht nur das Wachstum *Rhopalodia gibbas*, sondern auch das Wachstum der Endosymbionten, die dann nicht mehr ausreichend auf Veränderungen der Nitratkonzentration reagieren können (DeYoe et al. 1992). Danach nimmt die Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle im Medium nach Floener und Bothe mit Konzentrationen von 1 mM Kalziumnitrat und 0,0075 oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat und 4,4 mM Kalziumnitrat und 0,0075 oder 0,05 mM di-Kaliumhydrogenphosphat nicht mit Abnahme der Nitratkonzentration zu. Dies bestätigt auch die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern pro *Rhopalodia gibba* Zelle (Kapitel 2-2). Dabei ist die Abnahme der Endosymbionten vermutlich einer Verstoffwechselung dieser seitens der Wirtszelle oder Unterschieden in der Teilungsrate von Endosymbionten und Wirtszelle geschuldet. Im letzteren Fall

nimmt die Wirtszelle vermutlich die geringen Mengen an Phosphor, die im umgebenden Medium zur Verfügung stehen auf, diese erreichen den Endosymbionten aber nicht, was dann unterschiedliche Teilungsraten zur Folge hat (DeYoe et al. 1992). Nichtsdestotrotz bleibt festzuhalten, dass Diatomeen, die im MBL-Medium mit 2 mM Natriumnitrat kultiviert wurden, also auch in einem Medium mit Phosphor als limitierenden Faktor, ein entsprechender Zusammenhang nicht aufgezeigt werden konnte (Tabelle 3-2-1, Kapitel 2-2). Zudem darf nicht vernachlässigt werden, dass nicht nur Stickstoff und Phosphor sondern darüber hinaus auch verschiedene andere Elemente als limitierende Faktoren im Medium wirken und damit Einfluss auf das Wachstum der Wirtszelle und der Endosymbionten nehmen können.

Dabei ist die Anpassung der Anzahl an Sphäroidkörper pro *Rhopalodia gibba* Zelle nur eine Alternative der Diatomee auf das Stickstoffangebot des umgebenden Mediums zu reagieren. An dieser Stelle sei auch die Abnahme des durchschnittlichen Volumens der Endosymbionten mit Abnahme der Stickstoffkonzentration im Medium erwähnt. Dieser Abnahme ist mit der Zunahme im Verhältnis von durchschnittlicher Oberfläche zum durchschnittlichen Volumen der Sphäroidkörper verbunden. Dabei folgt dieser Zunahme vermutlich eine gesteigerte Aufnahme an Nährstoffen. Dies mag dann die Abnahme der Stickstoffkonzentration im umgebenden Medium wenigstens zum Teil ausgleichen (DeYoe et al. 1992). Das Volumen der Sphäroidkörper wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht. Dennoch steht zu vermuten, dass es bedeutend für die Reaktion der Diatomee auf Veränderungen im Stickstoffangebot des umgebenden Mediums ist.

3.3 Quantitativer Nachweis der Transkriptlevel von *nifD* aus *Rhopalodia gibbas* Sphäroidkörpern und aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142

Während Sphäroidkörper molekularen Stickstoff in der Hellphase fixieren, wird dies von *Cyanothece* sp. ATCC 51142 ausschließlich in der Dunkelphase und nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen geleistet (Floener und Bothe 1980, Pechtl et al. 2004, Colón-López et al. 1997). Northern Blot-Analysen haben gezeigt, dass die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 transkriptionell reguliert wird (Colón-López et al. 1997). Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher die

transkriptionelle Regulation der biologischen Stickstofffixierung in beiden Organismen mit Hilfe der quantitativen *Real Time*-PCR untersucht. Grundlage dieser waren Transkripte von *nifD*, das eine Untereinheit der Nitrogenase kodiert, isoliert zu verschiedenen Zeitpunkten aus nitrathaltigem oder nitratfreiem Medium. Als Referenz wurde die 16S rRNA eingesetzt.

3.3.1 Relative Quantifizierung der *Cyanothece* sp. ATCC 51142 *nifD* mRNA

Den Ergebnissen der quantitativen *Real Time*-PCR folgend fixiert *Cyanothece* sp. ATCC 51142 molekularen Stickstoff ausschließlich in der Dunkelphase und nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen: Die Anzahl an *nifD* Transkripten in Zellen, die ohne gebundenen Stickstoff kultiviert wurden ist in der Dunkelphase von 22.00 Uhr bis 8.00 Uhr eindeutig erhöht. Dabei ist der *nifD* Transkriptlevel um 24.00 Uhr und um 2.00 Uhr am höchsten (2258,44-fach bzw. 2555,10-fach relativ zur Referenz um 12.00 Uhr oder 1422,73-fach bzw. 2006,24-fach Transkriptlevel relativ zum ΔC_t -Wert der Proben aus nitrathaltigem Medium; Kapitel 2.3.3). Diese Ergebnisse bestätigen damit auch *Northern Blot*-Analysen von Colón-López et al. (Colón-López et al. 1997).

3.3.2 Relative Quantifizierung der Sphäroidkörper *nifD* mRNA

Die Ergebnisse der quantitativen *Real Time*-PCR lassen vermuten, dass die Sphäroidkörper den Nitrogenase-Komplex konstitutiv transkribieren, unabhängig von Licht- und Dunkelphase und der zur Verfügung stehenden Stickstoffquelle. Als Grundlage dieser Vermutung ist zum einen der geringe Unterschied im *nifD* Transkriptlevel aller Proben zu nennen. Danach unterscheidet sich die Anzahl an *nifD* Transkripten maximal um den Faktor 5,03. Zum anderen fällt auf, dass die ΔC_t -Werte der Sphäroidkörper in etwa den ΔC_t -Werten der in der Dunkelphase und unter Stickstoff limitierten Bedingungen kultivierten *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen entspricht und damit den ΔC_t -Werten, die während der Stickstofffixierung *Cyanothece* sp. ATCC 51142 bestimmt wurden (Kapitel 2.3.3 und 2.3.4). Dabei überrascht die konstitutive Transkription des Nitrogenase-Komplexes seitens der Sphäroidkörper insofern, da der Nitrogenase-Komplex Acetylenreduktionstests zu Folge nur in der Hellphase aktiv ist (Floener und Bothe 1980, Pechtl et al. 2004).

3.3.3 Regulation der biologischen Stickstofffixierung

Cyanothece sp. ATCC 51142 transkribiert den Nitrogenase-Komplex nur in der Dunkelphase und auch nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen (Kapitel 2.3.3). Ursache dieser Regulation ist zum einen die extreme Instabilität des Nitrogenase-Komplexes in Anwesenheit von Sauerstoff. Molekularer Sauerstoff wird als Produkt der Lichtreaktion der Photosynthese in der Hellphase produziert, was die circadiane Regulation der Stickstofffixierung in photosynthetisch aktiven Organismen erfordert. So fixiert *Cyanothece* sp. ATCC 51142 molekularen Stickstoff in der Dunkelphase und damit zeitlich getrennt von der Photosynthese. Diese zeitliche Trennung von Stickstofffixierung und Photosynthese gilt als Charakteristikum zahlreicher einzelliger diazotropher Cyanobakterien (Berman-Frank et al. 2003). Anders lösen die filamentösen Stickstoff fixierenden Cyanobakterien das Problem der extremen Instabilität des Nitrogenase-Komplexes in Anwesenheit von Sauerstoff: Sie differenzieren einen Teil ihrer Zellen zu Heterozysten aus, die als Spezialisten der Stickstofffixierung zu bezeichnen sind. Heterozysten betreiben keine Sauerstoff produzierende Lichtreaktion der Photosynthese mehr, weisen besonders dicke Zellwände, die das Eindringen von Sauerstoff verhindern, auf und besitzen Oxidasen, die eindringenden Sauerstoff zu reduzieren vermögen (Meeks und Elhai 2002). Das nicht Heterozysten bildende filamentöse Cyanobakterium *Trichodesmium* sp. kombiniert die zeitliche und räumliche Trennung von Stickstofffixierung und Photosynthese besonders komplex (Berman-Frank et al. 2003). Dabei fixiert *Trichodesmium* sp. Stickstoff abhängig von der Lichtreaktion der Photosynthese und der damit verbundenen Verfügbarkeit reduzierender Äquivalente und ATP, der molekulare Sauerstoff wird mittels Mehler-Reaktion reduziert (Rabouille et al. 2006, Staal et al. 2007, Berman-Frank et al. 2003).

Im Gegensatz zu all diesen frei lebenden Cyanobakterien sind die intrazellulär lebenden Sphäroidkörper vermutlich nicht mehr photosynthetisch aktiv. So fehlen ihnen nicht nur zahlreiche photosynthetische Gene (z. B. *photosystem II CP43 protein*) sondern auch die charakteristische durch Farbstoffe der Photosynthese hervorgerufene Färbung (Kapitel 2.1.5 und 2.1.6; Kneip et al. 2008). Dennoch bleibt festzuhalten, dass die diazotrophen Sphäroidkörper in einer photosynthetisch aktiven eukaryoten Wirtszelle lokalisiert sind und damit Stickstofffixierung und Photosynthese zeitgleich, wenn auch räumlich getrennt voneinander stattfinden (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). So sind die Sphäroidkörper von einer

Doppelmembran plus der symbiontophoren Membran umgeben, die Plastide *Rhopalodia gibbas* ist von vier Membranen umgeben. Stickstofffixierung und Photosynthese sind also durch sieben Membranen voneinander getrennt, was vermutlich ausreichend ist, um neben der Photosynthese auch die Stickstofffixierung in der Lichtphase zu erlauben. Ähnliches ist aus einzelligen diazotrophen Cyanobakterien der „Gruppe A“ oder UCYN-A bekannt, die kein Photosystem II besitzen, was ihnen die Fixierung molekularen Stickstoffs in der Lichtphase erlaubt (Zehr et al. 2008).

Die räumliche Trennung von Stickstofffixierung und Photosynthese in *Rhopalodia gibba* unterscheidet sich deutlich von der zeitlichen Trennung, die den nächsten frei lebenden Verwandten der Sphäroidkörper, dem einzelligen Cyanobakterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142 zu eigen ist. Dabei stellen die im großen Umfang während der Photosynthese produzierten und als Stärkeeinschlüsse gespeicherten Kohlenhydrate neben der Zellatmung die Energie für die biologische Stickstofffixierung in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 bereit (Berman-Frank et al. 2003, Colón-López et al. 1997). Das lässt die Vermutung zu, dass Stickstofffixierung und Photosynthese in *Rhopalodia gibba* zeitgleich ablaufen, um mittels Photosynthese seitens der Wirtszelle ausreichend Energie für die Stickstofffixierung im Endosymbionten bereitzustellen.

Als weitere Ursache der Regulation der biologischen Stickstofffixierung ist ein Charakteristikum molekularen Stickstoffs zu nennen: Dieser ist extrem reaktionsträge, so dass für den Prozess der biologischen Stickstofffixierung große Mengen an Energie in Form von ATP und Reduktionsäquivalenten aufgewendet werden müssen. Zusätzlich geht die Fixierung molekularen Stickstoffs mit der Synthese des Nitrogenase-Komplexes und der Aufrechterhaltung von anaeroben oder mikroaeroben Bedingungen, die den Nitrogenase-Komplex vor der Inaktivierung durch Sauerstoff schützen, einher (Gallon 2001). Die Verwendung von molekularem Stickstoff an Stelle von fixiertem Stickstoff verursacht also einige zusätzliche „Kosten“ und wird daher nicht bevorzugt, wenn gebundener Stickstoff verfügbar ist (Rabouille et al. 2006). Als Beispiel sei hier *Cyanothece* sp. ATCC 51142 genannt, das den Ergebnissen der quantitativen *Real Time*-PCR folgend molekularen Stickstoff nicht im nitrathaltigen sondern nur im nitratfreien Medium fixiert (Kapitel 2.3.3). Im Gegensatz dazu scheint die Zugabe einer verwertbaren Stickstoffquelle die Stickstofffixierung in den Sphäroidkörpern nicht vollständig zu unterdrücken. Zwar war der Nitrogenase-Komplex Acetylenreduktionstests folgend besonders aktiv, wenn

Rhopalodia gibba ohne Stickstoffquelle kultiviert wurde. Nichtsdestotrotz wurde die Reduktion von Acetylen auch von Zellen, die mit Nitrat (50 bis 70%) oder Ammonium (10 bis 40%) kultiviert wurden, katalysiert (Floener und Bothe 1980). Das erinnert an die Ergebnisse der quantitativen *Real Time*-PCR nach der sich die Anzahl an *nifD* Transkripte, unabhängig davon, ob *Rhopalodia gibba* ohne Stickstoffquelle oder mit Nitrat kultiviert wurde, innerhalb von 24 Stunden nicht wesentlich ändert (Kapitel 2.3.4). Vergleichbares ist auch von den extrazellulären Symbionten des Wasserfarns *Azolla*, *Anabaena azollae*, bekannt, die trotz Kultivierung im nitrat- oder ammoniumhaltigen Medium beträchtliche Mengen molekularen Stickstoffs fixieren (Floener und Bothe 1980). Die Ursache der Fixierung molekularen Stickstoffs unabhängig von der zur Verfügung stehenden Stickstoffquelle mag also in der Anpassung an einen symbiontischen Lebensstil zu suchen sein.

Der Stickstoffmetabolismus erfordert die koordinierte Expression zahlreicher Enzyme. Dies umfasst nicht nur die intrazelluläre Biosynthese stickstoffhaltiger Komponenten sondern auch die Nutzung extrazellulärer Stickstoffquellen. Die Kontrolle dieser Expression wird von der Verfügbarkeit des gebundenen Stickstoffs bestimmt und von komplexen Netzwerken transkriptionell und posttranslational reguliert (Merrick und Edwards 1995). Ein entscheidendes Protein dieser Kontrolle ist der Transkriptionsfaktor NtcA (Herrero et al. 2001). Dabei findet man beispielsweise in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Zellen, die ohne Stickstoffquelle kultiviert wurden, weniger und in Zellen, die mit Nitrat kultiviert wurden, mehr *ntcA* mRNA. In mit Ammonium kultivierten Zellen nimmt der *ntcA* Level mit der Konzentration des eingesetzten Ammoniums zu (Bradley und Reddy 1997). Nichtsdestotrotz gibt es in frei lebenden Cyanobakterien stromaufwärts von *nifH* keine Sequenzen, die charakteristisch für NtcA-regulierte Promotoren sind (Merrick und Edwards 1995). Entsprechendes gilt für das Genom der Sphäroidkörper. NtcA scheint also eher an der Assimilation und weniger an der Fixierung molekularen Stickstoffs beteiligt zu sein (Bradley und Reddy 1997).

Acetylenreduktionstests folgend ist der Nitrogenase-Komplex der Sphäroidkörper nur in der Hellphase aktiv (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). Dennoch konnte mittels quantitativer *Real Time*-PCR nachgewiesen werden, dass *nifD* in den Sphäroidkörpern konstitutiv und damit unabhängig von Hell- und Dunkelphase transkribiert wird (Kapitel 2.3.4). Die Stickstofffixierung der Sphäroidkörper wird also anders als die Stickstofffixierung in *Cyanothece* sp. ATCC

51142 nicht transkriptionell sondern erst nach der Transkription reguliert. Als Alternativen zur transkriptionellen Regulation sind beispielsweise die Stabilität der mRNA, die Translation oder die posttranslationale Modifikation des Nitrogenase-Komplexes zu nennen, die alle eine kurzfristige Anpassung der Stickstofffixierung an die äußeren Gegebenheiten erlauben. Dabei ist die posttranslationale Modifikation des Nitrogenase-Komplexes aus frei lebenden Cyanobakterien bekannt. So nutzen manche frei lebende Cyanobakterien eine Modifikation der Nitrogenase-Reduktase, die zusätzlich zur transkriptionellen Regulation eine posttranslationale Regulation der Stickstofffixierung erlaubt (Herrero et al. 2001). Dabei ist die Modifikation der Nitrogenase-Reduktase in *Gloeotheca* sp. ATCC 27152 eine Palmitoylierung (Gallon et al. 2000). Zudem wurde eine ADP-Ribosylierung als mögliche Modifikation der Nitrogenase-Reduktase in Betracht gezogen (Bergman et al. 1997). Die Kontrolle dieser Modifikationen und der sich anschließenden Demodifikationen scheint einem circadianen Rhythmus zu obliegen (Chen et al. 1998). Eine Ausnahme innerhalb der frei lebenden Cyanobakterien stellt die Regulation der Stickstofffixierung in *Anabaena variabilis* dar. Danach hemmen in *Anabaena variabilis* hohe Nitratkonzentrationen zwar die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes, nicht aber die Synthese der *nif* mRNA, so dass die Stickstofffixierung in *Anabaena variabilis* erst nach der Transkription reguliert wird (Helber et al. 1988).

Die kurzfristige Anpassung der Stickstofffixierung ist nur eine Alternative *Rhopalodia gibbas* auf das Stickstoffangebot des umgebenden Mediums zu reagieren. Eine weitere ist die langfristige Anpassung der Stickstofffixierung an das Stickstoffangebot des umgebenden Mediums, also die Zu- oder Abnahme der Anzahl an Endosymbionten pro *Rhopalodia gibba* Zelle. Dabei nimmt die Anzahl mit Abnahme der Nitratkonzentration des umgebenden Mediums zu (Kapitel 2.2 und 3.2). Eine Veränderung des Stickstoffangebots des umgebenden Mediums kann vermutlich nur die Wirtszelle detektieren. Das lässt die Annahme zu, dass die Wirtszelle die Teilungsrate der Endosymbionten kontrolliert, insbesondere, da keine *Rhopalodia gibba* Zellen ohne Sphäroidkörper existieren und zudem maximal fünf Sphäroidkörper pro Zelle identifiziert wurden

Zusammenfassend bedeuten die Veränderungen, die die Sphäroidkörper im weitesten Sinne in Bezug auf die Stickstofffixierung betreffen und von ihren frei lebenden Verwandten unterscheiden - zu nennen sind beispielsweise die Stickstofffixierung in der Hellphase und der Verlust der photosynthetischen Aktivität aber auch die nicht transkriptionelle Regulation der Stickstofffixierung – eine der

Koevolution folgende Anpassung des endosymbiontischen Organismus an die Stoffwechselmaschinerie der chimären Zelle.

3.4 Ausblick

Die Sphäroidkörper der Diatomee *Rhopalodia gibba* sind obligate Endosymbionten cyanobakterieller Herkunft. Die Sequenzierung von Teilen des Genoms der Sphäroidkörper im Rahmen dieser Arbeit hat bereits einige der degenerativen genetischen Umstrukturierungen, die das Genom der Sphäroidkörper im Zuge der Koevolution mit ihrer Wirtszelle erfahren hat, aufgezeigt. Die weitere Sequenzierung wird dabei nicht nur zusätzliche sondern auch den Umfang dieser degenerativen genetischen Umstrukturierungen zu Tage bringen. Zudem wird die weitere Sequenzierung zeigen, welche Stoffwechselwege neben dem der Photosynthese, der Milchsäuregärung und der Biosynthese von GDP-L-Fucose besonders stark von Substitutionen, Insertionen oder Deletionen und damit einer Inaktivierung betroffen sind. Zusätzlich kann einer weiteren Sequenzierung gegebenenfalls auch ein Hinweis bezüglich des Transfers von Genen in den Nukleus entnommen werden.

Die Sphäroidkörper fixieren molekularen Stickstoff ausschließlich in der Hellphase (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten quantitativen *Real Time*-PCR-Experimente haben gezeigt, dass die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes der Sphäroidkörper nicht transkriptionell reguliert wird und der Nitrogenase-Komplex nicht nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen aktiv zu sein scheint. Damit unterscheiden sich die Sphäroidkörper deutlich von ihren frei lebenden Verwandten. So wird die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 transkriptionell reguliert, molekularer Stickstoff wird nur in der Dunkelphase und nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen fixiert (Colón-López et al. 1997). Unter Umständen kann auch hier die weitere Sequenzierung Ursachen der modifizierten Stickstofffixierung der Sphäroidkörper aufzeigen. Untersuchungen auf Proteinebene scheinen an dieser Stelle ebenfalls sinnvoll zu sein.

Letztlich hat die Charakterisierung der *Rhopalodia gibba* – Sphäroidkörper Assoziation gerade erst begonnen. So kann neben Untersuchungen bezüglich der biologischen Stickstofffixierung und der weiteren Sequenzierung unter anderem auch die Kontrolle, die der Wirt auf seinen Symbionten ausübt, und der Austausch von Stoffwechselprodukten zwischen Wirt und Symbiont Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

4 Zusammenfassung

Die Sphäroidkörper der Diatomee *Rhopalodia gibba* sind obligate Endosymbionten cyanobakterieller Herkunft.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 571 042 bp des Genoms der Sphäroidkörper sequenziert und analysiert. Danach weist das Genom zahlreiche Modifikationen auf, die mit dem intrazellulären Lebensstil des Sphäroidkörpers einhergehen. Dazu gehören unter anderem die Inaktivierung und der Verlust zahlreicher Gene. Daneben ist ein Anstieg des A/T-Gehalts zu nennen, der vor allem die nicht kodierenden Regionen und die dritte Kodonposition der kodierenden Regionen betrifft. Pseudogene findet man insbesondere unter Transposasen. Zudem sind Gene, die Proteine der Photosynthese kodierten, zumeist inaktiviert, so dass die Sphäroidkörper vermutlich nicht mehr photosynthetisch aktiv sind.

Neben den oben genannten Modifikationen ist als ein weiteres Charakteristikum von Genomen älterer Endosymbionten der Verlust von Genen, die DNA-Reparaturproteine kodieren, zu nennen (Dale et al. 2003). Im Genom der Sphäroidkörper wurden verschiedenste DNA-Reparaturproteine identifiziert. Dies ist einer von zahlreichen Anhaltspunkten, die Sphäroidkörper evolutionär jungen Endosymbionten zuzuordnen.

Ein Charakteristikum der Sphäroidkörper ist die Fixierung molekularen Stickstoffs in der Hellphase (Floener und Bothe 1980, Prechtel et al. 2004). Den Ergebnissen der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten quantitativen *Real Time*-PCR folgend wird die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes nicht transkriptionell reguliert. Zudem ist der Nitrogenase-Komplex nicht nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen aktiv. Das unterscheidet die Sphäroidkörper eindeutig von ihren frei lebenden Verwandten. So wird die Aktivität des Nitrogenase-Komplexes in *Cyanothece* sp. ATCC 51142 transkriptionell reguliert, molekularer Stickstoff wird nur in der Dunkelpase und nur unter Stickstoff limitierten Bedingungen fixiert (Colón-López et al. 1997).

Die *Rhopalodia gibba* – Sphäroidkörper Assoziation scheint evolutionär jung zu sein. Dies erlaubt die degenerativen Prozesse, die einer Endosymbiose insbesondere anfangs zu Grunde liegen, besser zu erfassen.

5 Material und Methoden

5.1 Chemikalien

Chemikalien wurden, wenn nicht anders angegeben, von Merck (Darmstadt), Carl Roth (Karlsruhe) oder Sigma-Aldrich (München) bezogen.

5.2 Medien, Puffer und Lösungen

Standardmedien, -puffer- und -lösungen wurden nach Sambrook et al. hergestellt, die Zusammensetzung weiterer Medien, Puffer und Lösungen ist jeweils im Kapitel ihres Verbrauchs beschrieben (Sambrook et al. 1989). Alle verwendeten Medien, Puffer und Lösungen wurden vor Gebrauch autoklaviert oder steril filtriert.

5.3 Oligonukleotide

Oligonukleotide wurden von MWG-Biotech (Ebersberg) bezogen. Primer, die für die *LI-COR*TM-Sequenzierung verwendet wurden, waren mit den Fluoreszenzfarbstoffen IRDye700 oder IRDye800 markiert.

S5F5RE5'	5'-GCC ATT TCC ATT CAG TTA TTT CC-3'
S5F5rechts3'	5'-GTG ATT GAT GTC ATT CAC CGG TTT C-3'
SK40A11RE5'	5'-TTG AAA TGT GGA TAT TCT ATC TAG-3'
SK40A11RE3'	5'-CCA AAT GAA TCG AGA CTG AAG C-3'
SKKHright_uni	5'-GGC TGA AAT CAG TCG CCT AGA AGC TTC TG-3'
SKKHright_rev	5'-CGA TTG CTA TCG TGG GAA CCA CTA GAG C-3'
SKKHleft_uni	5'-CCA GGG GCA TAA CGA GGA CTA AAA TGG G-3'
SKKHleft_rev	5'-ACG GGT TTA TCA AGT AAG CCC TGG TGT C-3'
SKrecA_uni	5'-CTA CTC TCG CTC TCC ATG CGA TTG-3'
SKrecA_rev	5'-CGG CGA ATA TCT AAA CGG ACT GAG-3'
recFSKuni	5'-TCG GAC CTC AGC ATT ATC-3'
recFSKrev	5'-TCG ATG AGG TCC TAC TAA GC-3'
groES_5'	5'-GA A/G GA A/G AA A/G ACI GCI GGI GG -3'

groES_3'	5'-TTI A C/T I TCI GTI CCI GC A/G TA C/T TT-3'
GroESneu_5'	5'-AAT AAA GAA CTT GGT CGC C-3'
GroESneu_3'b	5'-ATC TTA CTC CCC GAA ACT GC-3'
CYnifDRT_uni	5'-TTA CCT GGG GTT ATG ACC GCT-3'
CYnifDRT_rev	5'-TAG TTA CGA CCA GAC CAG GAG-3'
CY16sRT_uni	5'-AAC ATC GGT GGC GAA GGC GCG CTA-3'
CY16sRT_rev	5'-ACG GCT CGG GTC GAT ACA AGC CAC-3'
nifDRT_uni	5'-TTG TGC TTA CGC TGG ATC AAA AGG G-3'
nifDRT_rev	5'-CCG ATG TAG TAG TTA CGA CGA CC-3'
SK16Suni3	5'-CCT CTT TTC TCA GGG AAG AAG ATC-3'
SK16Srev3	5'-TGC CCT TCC AGA GTT AAG CTC T-3'
<i>pJET1.2 FSP</i>	5'-CGA CTC ACT ATA GGG AGA GCG GC-3'
<i>pJET1.2 RSP</i>	5'-AAG AAC ATC GAT TTT CCA TGG CAG-3'
M13 uni	5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT-3'
M13 rev	5'-CAG GAA ACA GTC ATG ACC-3'
<i>pCC1/pEPIFos</i> <i>FSP/FosA</i>	5'-GGA TGT GCT GCA AGG CGA TTA AGT TGG-3'
<i>pCC1/pEPIFos</i> <i>RSP/FosB</i>	5'-CTC GTA TGT TGT GTG GAA TTG TGA GC-3'

Die für den Lückenschluss der Fosmide verwendeten Primer sind im Anhang aufgeführt.

5.4 Vektoren

Die Grundlage für die Herstellung der Fosmidbibliothek bildete der *pCC1Fos*TM-Vektor (EPICENTRE Biotechnologies, Madison, USA).

Für die Analyse von PCR-Produkten wurden *pGEM*[®]-*T* (Promega, Mannheim) oder *pJET1.2/blunt* (Fermentas, St. Leon-Rot) verwendet.

Shotgun-Plasmidbibliotheken wurden mittels *pUC19/SmaI*, *pJET1.2/blunt* (beide Fermentas, St. Leon-Rot) oder *pEZSeq*TM (Lucigen, Middleton, USA) hergestellt.

5.5 Organismen

Rhopalodia gibba wurde aus dem Botanischen Garten der Philipps-Universität in Marburg isoliert.

Cyanothece sp. ATCC 51142 wurde erstmals 1993 an der Golfküste Texas (USA) isoliert (Reddy et al. 1993).

Escherichia coli XL1-Blue MRF', *Escherichia coli* Top10 und EPI100™-T1^R *Escherichia coli* sind Produkte von Stratagene (Heidelberg), Invitrogen (Karlsruhe) bzw. EPICENTRE Biotechnologies (Madison, USA).

5.6 Software

Die Auswertung der Sequenzdaten erfolgte mit der Software *Sequencher*™ 4.7 (Gene Codes, Ann Arbor, USA). Für die Darstellung der sequenzierten Fragmente wurde die Software *Clone Manager 5N* verwendet (Scientific & Educational Software, Cary, USA). Alignments wurden mittels *ClustalX* (Version 2.0.10) und *GeneDoc* (Version # 2.6.02) erstellt (Larkin et al. 2007, Nicholas et al. 1997). Der Vergleich von Genomfragmenten wurde mittels *GATA* durchgeführt (Nix und Eisen 2005).

Zudem wurde mittels Internet auf folgendes zugegriffen:

<i>BLAST</i>	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/
<i>Codon Usage</i>	http://www.bioinformatics.org/sms2/codon_usage.html
<i>IMG</i>	http://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/pub/main.cgi
<i>ORF Finder</i>	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html
<i>tRNAscan-SE</i>	http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/

5.7 Zellkultur

5.7.1 Zellkultur von *Escherichia coli*

Escherichia coli XL1-Blue MRF' und *Escherichia coli* Top10 Zellen wurden in LB-Medium bei 37 °C schüttelnd nach Sambrook et al. kultiviert (Sambrook et al. 1989). Für die Anzucht auf Platten wurde das LB-Medium mit 1,5% Agar versetzt. EPI100™-T1^R *Escherichia coli* Zellen wurden nach Herstellerangaben kultiviert.

5.7.2 Zellkultur von *Rhopalodia gibba*

Rhopalodia gibba wurde in einem modifizierten Medium nach Floener und Bothe (Floener/Bothe-Medium) oder in modifiziertem MBL-Medium nach DeYoe et al. in einem 14/10 Stunden Hell/Dunkel-Rhythmus bei 20 °C in 1 L Fernbach-Kolben kultiviert (Floener und Bothe 1980, Stein 1973, DeYoe et al. 1992).

Floener/Bothe-Medium (pro L):

0,2 mL oder 3,3 mL (0,06 mM bzw. 1 mM) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ -Stammlösung
 20 mL $\text{CaSO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ -Stammlösung
 0,8 mL KCl-Stammlösung
 1 mL $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ -Stammlösung
 0,2 mL NaCl-Stammlösung
 0,15 mL oder 1 mL (0,0075 mM bzw. 0,05 mM) K_2HPO_4 -Stammlösung
 1 mL NaHCO_3 -Stammlösung
 3 mL Na_2SiO_3 -Stammlösung
 0,5 mL Fe-EDTA-Stammlösung
 5 mL Spurenelementlösung
 1 mL Vitaminlösung nach von Stosch

Unmittelbar vor der Herstellung des Mediums wurde der pH-Wert der Na_2SiO_3 -Stammlösung mittels HCl auf 6,5 eingestellt. Das NaHCO_3 , der Fe-EDTA-Komplex und die Vitamine wurden steril filtriert und nach dem Autoklavieren hinzugefügt. Medium für die Stickstofffixierung wurde ohne $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ hergestellt. Im NH_4^+ -Medium wurde $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ durch 0,1 mM oder 1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ersetzt.

Stammlösungen des Floener/Bothe-Mediums (pro 100 mL):

7,08 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$
 0,01034 g $\text{CaSO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$
 0,745 g KCl
 2,465 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$
 0,2923 g NaCl
 0,871 g K_2HPO_4

3,36 g NaHCO₃
 5 g Na₂SiO₃
 0,372 x 10⁻³ g Fe-EDTA

Spurenelementlösung Floener/Bothe-Mediums (pro 100 mL):

0,02 mL CoCl₂-Stammlösung
 2 mL Na₂B₄O₇-Stammlösung
 2 mL MnCl₂ x 4 H₂O-Stammlösung
 0,02 mL ZnSO₄ x 7 H₂O-Stammlösung
 0,02 mL CuSO₄ x 5 H₂O-Stammlösung
 0,2 mL NaMoO₄ x 2 H₂O-Stammlösung
 2 mL FeSO₄ als EDTA-Komplex-Stammlösung
 4 mL Na-EDTA-Stammlösung

Spurenelementstammlösungen Floener/Bothe-Mediums (pro 100 mL):

23,8 mg CoCl₂
 935 mg Na₂B₄O₇
 198 mg MnCl₂ x 4 H₂O
 28,8 mg ZnSO₄ x 7 H₂O
 25 mg CuSO₄ x 5 H₂O
 24,2 mg NaMoO₄ x 2 H₂O
 278 mg FeSO₄ als EDTA-Komplex
 372 mg Na-EDTA

Vitaminstammlösung nach von Stosch:

Cyanocobalamin (Vitamin B ₁₂)	5,2 µM
Biotin (Vitamin H)	0,025 µM
Thiamin-HCl (Vitamin B ₁)	25,6 nM

5.7.3 Zellkultur von *Cyanothece* sp. ATCC 51142

Cyanothece sp. ATCC 51142 wurde in ATCC 1047 Medium in einem 14/10 Stunden Hell/Dunkel-Rhythmus schüttelnd bei 26 °C kultiviert.

ATCC 1047 Medium:

250 mL dH₂O
 750 mL Meerwasser
 0,04 g MgSO₄ x 7 H₂O
 0,02 g CaCl₂ x 2 H₂O
 0,75 g NaNO₃
 0,02 g K₂HPO₄ x 3H₂O
 3,0 mg Zitronensäure
 3,0 mg Fe(NH₄)₂-Citrat
 0,5 mg Na₂-EDTA
 0,02 g Na₂CO₃
 20 µg Cyanocobalamin (Vitamin B12)
 1 mL Spurenelementlösung

Ein pH-Wert von 8,5 wurde mit KOH eingestellt und das Medium steril filtriert. Das Medium für die Stickstofffixierung wurde ohne NaNO₃ hergestellt.

Spurenelementlösung des ATCC 1047 Mediums:

1 L dH₂O
 2,86 g H₃BO₃
 1,81 g MnCl₂ x 4H₂O
 0,222 g ZnSO₄ x 7 H₂O
 0,039 g Na₂MoO₄ x 2 H₂O
 0,079 gCuSO₄ x 2 H₂O
 49,4 mg Co(NO₃)₂ x 6H₂O

5.8 Transformation

Die Transformation von *Escherichia coli* XL1-Blue MRF' erfolgte mittels TransformAID™ Bacterial Transformation Kit (Fermentas, St. Leon-Rot) nach Herstellerangaben.

Kompetente *Escherichia coli* Top10 Zellen wurden mittels RbCl₂ und CaCl₂ hergestellt. Dazu wurden 2 mL einer Übernachtskultur mit 100 mL LB-Medium mit 10 mM MgCl₂ und 10 mM MgSO₄ versetzt und bis zu einer OD₆₀₀ von 0,6 bei 37 °C schüttelnd kultiviert. Alle nun folgenden Schritte wurden auf Eis oder bei 4 °C

durchgeführt: Die Zellen wurden in Zentrifugenbecher überführt, 30 min auf Eis inkubiert und im Anschluss 8 min bei 3000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen in 33 mL RF1 resuspendiert und erneut 30 min auf Eis inkubiert. Die Zellen wurden erneut 8 min bei 3000 x g zentrifugiert, der Überstand verworfen und die Zellen in 5 mL RF2 resuspendiert und 30 min auf Eis inkubiert. Nun wurden je 100 µL Zellen aliquotiert, in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80 °C gelagert. Für die Transformation wurde ein 100 µL Aliquot kompetenter Zellen auf Eis aufgetaut, mit der Ligation versetzt und 30 min auf Eis inkubiert (Kapitel 5.15). Die Reaktion wurde nun 1 min bei 42 °C und dann erneut 30 min auf Eis inkubiert. Im Anschluss wurde die Reaktion mit 300 µL LB-Medium versetzt, 30 min bei 37 °C schüttelnd inkubiert, auf LB-Platten mit Selektionsmarker ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert.

RF1: 100 mM RbCl₂
50 mM MnCl₂ x 4 H₂O
30 mM KAc
15% (w/v) Glycerin
pH 5,8 wurde mittels Essigsäure eingestellt

RF2: 10 mM 3 MOPS
10 mM RbCl₂
75 mM CaCl₂ x 2 H₂O
15% (w/v) Glycerin
pH 5,8 wurde mittels NaOH eingestellt

5.9 Koloniehybridisierung

Für die Koloniehybridisierung wurden Kryostocks der Fosmidbibliothek im Verhältnis 1:10 000 mit Freezing-Medium verdünnt. Davon wurden je 100 µL auf vier LB-Platten (Durchmesser 12 cm) inklusive 12,5 µg/µL Chloramphenicol (SERVA Electrophoresis, Heidelberg) ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Platten wurden im Anschluss mindestens 2 h bei 4 °C gekühlt. Auf jede der vier Platten wurde dann eine *Hybond N⁺*TM-Membran (Durchmesser 12 cm, GE Healthcare, Freiburg) gelegt, dabei die Orientierung markiert und nach 1 min abgezogen. Entsprechend wurde mit einer zweiten *Hybond N⁺*TM-Membran verfahren,

der Abzug fand nun nach 5 min statt. Die *Hybond N⁺*TM-Membranen wurden dann 3 min auf mit 10% SDS (w/v), 5 min auf mit SB2 und 5 min auf mit SB3 getränktes *Whatman 3MM*-Papier (Schleicher & Schüll, Dassel) gelegt. Dabei war die Kolonieseite jeweils nach oben gerichtet. Im Anschluss wurden die *Hybond N⁺*TM-Membranen 5 min in 2 x SSC gewaschen, getrocknet und 1 h bei 80 °C gebacken. Die Prähybridisierung der *Hybond N⁺*TM-Membranen erfolgte mittels *Roti®-Hybriquick* nach Herstellerangaben. Mit Digoxigenin markierte Hybridisierungs sonden wurden mittels *PCR DIG Labeling Mix* (Roche Diagnostics, Mannheim) synthetisiert, unspezifische Antikörperbindungsstellen wurden mittels *Blocking Reagent* (Roche Diagnostics, Mannheim) abgesättigt und der Nachweis der Sonde erfolgte mittels *Anti-Digoxigenin-AP, Fab fragments*-Antikörper in einer Verdünnung von 1:20 000 (Roche Diagnostics, Mannheim). Die Signale wurden schließlich mittels *CDP-Star, ready-to-use* (Roche Diagnostics, Mannheim) detektiert. Die Entwicklung des Röntgenfilms (*X-Ray Film RX Medical*, Fujifilm, Düsseldorf) erfolgte unter Rotlicht mittels Verwendung der *XGB Developer/Fixer Replenisher Solutions* (Kodak, Stuttgart). Alle im Rahmen der Koloniehybridisierung von Roche Diagnostics verwendeten Chemikalien wurden nach Herstellerangaben eingesetzt.

Freezing-Medium: 1% (w/v) Trypton
 0,5% (w/v) Hefeextrakt
 1% (w/v) NaCl
 36 mM K₂HPO₄
 13,2 mM KH₂PO₄
 1,7 mM Na₃-Citrat
 0,4 mM MgSO₄
 6,8 mM (NH₄)₂SO₄
 4,4% (v/v) Glycerin

SB2: 1,5 M NaCl
 0,5 M NaOH

SB3: 1,5 M NaCl
 0,5 M Tris/HCl, pH 7,5

2 x SSC: 0,3 M NaCl

0,03 M Na₃-Citrat x 2 H₂O
pH 7,0

5.10 Auszählung von Sphäroidkörpern

Eine *Rhopalodia gibba* Kultur wurde 10 min bei 3 200 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen im Medium resuspendiert. Für die lichtmikroskopische Auszählung der Sphäroidkörper wurden diese mittels Baumwollblau direkt auf dem Objektträger eingefärbt.

5.11 Isolation von Sphäroidkörpern aus *Rhopalodia gibba*

Sphäroidkörper aus *Rhopalodia gibba* wurden modifiziert nach Prechtel et al. isoliert (Prechtel et al. 2004). Im dabei verwendeten diskontinuierlichen Gradienten mit 80, 55 und 40% (v/v) *Percoll*TM (GE Healthcare, Freiburg) bandierten die Sphäroidkörper innerhalb der 55%-Fraktion. *Rhopalodia gibba* wurde alternativ in einem Mörser mit flüssigem Stickstoff aufgeschlossen, als Puffer wurde dabei 1 x HMS verwendet.

Für die Isolation von RNA wurden die Sphäroidkörper direkt nach Zentrifugation des Überstands für 5 min bei 3 000 x g verwendet.

1 x HMS: 330 mM Sorbitol,
 50 mM HEPES/KOH pH 7,6
 3 mM MgCl₂

5.12 Isolation von DNA und RNA

5.12.1 Isolation von DNA

5.12.1.1 Isolation von DNA aus *Rhopalodia gibba*, Sphäroidkörpern und *Cyanothece* sp. ATCC 51142

Die DNA-Isolation aus *Rhopalodia gibba* und die DNA-Isolation aus Sphäroidkörpern erfolgte mittels CTAB nach Doyle und Doyle (Doyle und Doyle 1990). Dazu wurde eine *Rhopalodia gibba* Kultur 10 min bei 3200 x g und 3 x nach Zugabe von je 20 mL Isolationspuffer 1 min bei 100 x g zentrifugiert. Sphäroidkörper wurden nach Kapitel 5.11 isoliert und mit DNase I (4 mg/mL) im Verhältnis 1:1 000 15 min bei Raumtemperatur behandelt. Der Reaktion wurden im Anschluss 20 mM Na₂EDTA, pH 8,0 zugegeben und die DNase I 15 min bei 70 °C inaktiviert.

Die alternative DNA-Isolation aus Sphäroidkörpern und die DNA-Isolation aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 erfolgte mittels Glasperlen. Dazu wurden Sphäroidkörper nach Kapitel 5.11 isoliert und mit DNase I behandelt. Von *Cyanothece* sp. ATCC 51142 wurde 15 mL Kultur 10 min bei 4500 x g zentrifugiert und in 400 µl TE-Puffer suspendiert. Nach Zugabe von 200 µl Glasperlen, 8 µl 10% (w/v) SDS, 16 µl 5% (w/v) SLS und 400 µl Phenol (TE-gesättigt) wurde die Probe 3 x 10 s mittels Vortexer durchmischt. Die Probe wurde im Anschluss 10 min bei 13 000 x g und Raumtemperatur zentrifugiert. Die obere Phase wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt und 2 x mit je 1 Volumen PCI (25:24:1, v/v/v) gewaschen. Durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M NaOAc (pH 4,8 bis 5,2) und 2 Volumen Ethanol (absolut, eiskalt) wurde die DNA 2 h bei -20 °C präzipitiert und im Anschluss 20 min bei 20 000 x g und 4 °C zentrifugiert. Nach einem Waschschrift in 400 µl 70% (v/v) Ethanol wurde die DNA getrocknet und in 20 µl ddH₂O aufgenommen.

Isolationspuffer: 330 mM Sorbitol
20 mM MOPS
13 mM Tris
3 mM MgCl₂
0,1% (w/v) BSA

TE-Puffer: 10 mM Tris/HCl pH 8
 1 mM Na₂EDTA

5.12.1.2 Isolation von DNA aus *Escherichia coli*

Die Isolation von Plasmid- und Fosmid-DNA aus *Escherichia coli* erfolgte mittels alkalischer Lyse nach Birnboim und Doly (Birnboim und Doly 1979).

Für die Isolation von Plasmid-DNA wurden 1,5 mL einer Übernachtskultur 1 min bei 20 000 x g zentrifugiert. Das Pellet wurde in 200 µL P1 suspendiert und die Probe mit 200 µL P2 versetzt, geschüttelt und maximal 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss wurden 200 µL P3 und 25 µL Chloroform zugegeben, geschüttelt und 5 min auf Eis inkubiert. Nach 20 min Zentrifugation bei 20 000 x g und 4 °C wurde der Überstand in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Die DNA wurde durch Zugabe von 400 µL Isopropanol präzipitiert und im Anschluss 20 min bei 20 000 x g und 4°C zentrifugiert. Nach einem Waschschrift in 600 µL 70% (v/v) Ethanol wurde die DNA getrocknet und in 50 µL ddH₂O aufgenommen.

Für die Isolation von Fosmid-DNA wurden *Escherichia coli* Kulturen zunächst mit der *CopyControl™Induction Solution* (EPICENTRE Biotechnologies, Madison, USA) entsprechend den Herstellerangaben behandelt. Die Isolation von Fosmid-DNA erfolgte dann entsprechend der DNA-Isolation von Plasmiden, allerdings wurden je 300 µL P1, P2 und P3, 50 µL Chloroform, 600 µL Isopropanol und 800 µL 70% (v/v) Ethanol eingesetzt. Zudem wurden die Proben nach Zugabe von Isopropanol zusätzlich 1 h bei -80 °C inkubiert.

P1: 50 mM Tris/HCl pH 8,0
 10 mM Na₂EDTA
 100 µg/mL RNase A

P2: 200 mM NaOH
 1% (w/v) SDS

P3: 3 M KOAc, pH 5,5

5.12.2 Isolation von RNA

RNA aus nach Kapitel 5.11 isolierten Sphäroidkörpern und RNA aus *Cyanothece* sp. ATCC 51142 Kulturen wurde mittels NAES nach Mary et al. isoliert (Mary et al. 2004). Isolierte RNA wurde im Anschluss mittels DNaseI (Fermentas, St. Leon-Rot) nach Herstellerangaben behandelt.

Die Konzentrationsbestimmung von DNA und RNA erfolgte photometrisch mittels *NanoDrop ND-1000 UV/Vis* Spektralphotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA).

5.13 Vervielfältigung von DNA und RNA

5.13.1 Vervielfältigung von DNA

DNA wurde mittels PCR in einem *MasterCycler Gradient* oder *MasterCycler Personal* (beide Eppendorf, Hamburg) unter Verwendung der *BIOTOOLS DNA Polymerase* (Biotools B&M Labs, Madrid, Spanien) nach Saiki et al. und Mullis vervielfältigt (Saiki et al. 1985, Mullis 1990). Die *Annealing*-Temperatur, Elongationszeit, Mg^{2+} -Konzentration und Zyklenzahl wurde jeweils entsprechend der verwendeten Primer, der eingesetzten DNA und der Größe des erwarteten Produkts gewählt. Pro Reaktion wurden 50 bis 250 ng DNA eingesetzt.

5.13.2 Vervielfältigung von RNA

5.13.2.1 cDNA Synthese

cDNA wurde in einem *MasterCycler Gradient* oder *MasterCycler Personal* (beide Eppendorf, Hamburg) unter Verwendung der *M-MuLV Reverse Transcriptase* (Fermentas, St. Leon-Rot) synthetisiert. Für die cDNA-Synthese wurden 500 ng mit DNaseI behandelter RNA mit 0,2 µg *random hexamer primern* in einem Volumen von 13 µL 5 min bei 70 °C inkubiert und anschließend auf Eis gekühlt. Nach Zugabe von 4 µL *5 x reaction buffer* und 20 nmol *dNTP Mix* (Fermentas, St. Leon-Rot) wurde die Probe 5 min bei 25 °C inkubiert. Die cDNA wurde nach Zugabe von 1 µL *M-MuLV Reverse Transcriptase* (200 U/µL) 10 min bei 25 °C und 60 min bei 42 °C

synthetisiert. Im Anschluss wurde die *M-MuLV Reverse Transcriptase* 10 min bei 70 °C inaktiviert.

5.13.2.2 *Real Time*-PCR

cDNA wurde im *Mastercycler® ep realplex* (Eppendorf, Hamburg) unter Verwendung des *ABsolute™ QPCR SYBR® Green Mix* (ABgene, Hamburg) nach Morrison et al. und Freeman et al. quantifiziert (Morrison et al. 1998, Freeman et al. 1999). Für die *Real Time*-PCR wurden 5 µL der zuvor synthetisierten cDNA eingesetzt. Nach Zugabe von 12,5 µL *ABsolute™ QPCR SYBR® Green Mix*, 10 pmol 5'- und 3'-Primer in einem Volumen von 25 µL wurde die Probe in 40 Zyklen (15 min Denaturierung bei 95 °C, 40 Zyklen mit 15 s Denaturierung bei 95 °C, 15 s *Annealing* bei einer von der Schmelztemperatur der Primer abhängigen Temperatur, 20 s Elongation bei 72 °C und 20 s bei 80 °C) mit einer sich anschließenden Schmelzkurve quantifiziert.

5.14 Agarosegelelektrophorese

Die Agarosegelelektrophorese zur Analyse von DNA und RNA wurde nach Sambrook et al. durchgeführt (Sambrook et al. 1989). Zur Herstellung der Gelmatrix und als Elektrophoresepuffer wurde 1 x TBE-Puffer verwendet. Der Gelmatrix (1% (w/v) Agarose in TBE) wurde 3,75 µg mL⁻¹ Ethidiumbromid zugesetzt. Als DNA und RNA-Längenstandard wurde *GeneRuler™ Express DNA Ladder* bzw. *RiboRuler™ RNA Ladder, High Range* (Fermentas, St. Leon-Rot) verwendet. Die DNA und RNA wurde vor dem Beladen des Agarosegels mit 10 x DNA-Probenpuffer bzw. mit 2X *RNA Loading Dye* (Fermentas, St. Leon-Rot) versetzt und entsprechend den Herstellerangaben behandelt.

Die Elution von DNA aus Agarosegelen und die Reinigung von PCR-Produkten erfolgte mittels *JETsorb Gel Extraction Kit* (GENOMED, Löhne) oder *Wizard® SV Genomic DNA Kit* (Promega, Mannheim) nach Herstellerangaben.

1 x TBE-Puffer:	0,134 M Tris/HCl pH 8,8
	0,044 M Borsäure
	2,5 mM Na ₂ EDTA

10 x DNA-Probenpuffer: 0,1% (w/v) Bromphenolblau (SERVA
Electrophoresis, Heidelberg)
0,1% (w/v) Xylencyanol
50 mM Na₂EDTA
4 M Harnstoff
50% (w/v) Saccharose

5.15 Restriktion und Ligation

Vektoren wurden mittels Endonukleasen vom Typ II (Fermentas, St. Leon-Rot) bei 37 °C 1 h restringiert. Dabei wurde pro 1 µg zu restringierender DNA 1 U Enzym eingesetzt.

PCR-Produkte wurden in den *pGEM-T[®] Vector* (Promega, Mannheim) mittels *DNA T4 Ligase* (Fermentas, St. Leon-Rot) ligiert. Die Reaktion erfolgte 1 h bei Raumtemperatur oder über Nacht bei 4 °C mit 2,5 U des Enzyms in 1 x Ligationspuffer, 25 ng *pGEM-T[®] Vector* und PCR-Produkt im Verhältnis 1:5 bis 1:10. Alternativ wurden PCR-Produkte mittels des *CloneJET[™] PCR Cloning Kits* (Fermentas, St. Leon-Rot) nach Herstellerangaben ligiert.

Physikalisch gescherte *blunt-end* Fosmid-DNA wurde in den *pUC19/SmaI*-Vektor (Fermentas, St. Leon-Rot) mittels der *DNA T4-Ligase* (Fermentas, St. Leon-Rot) ligiert. Die Reaktion erfolgte über Nacht bei 4 °C mit 1 U des Enzyms in 1 x Ligationspuffer, 50 ng *pUC19/SmaI*-Vektor und *blunt-end* Fosmid-DNA im Verhältnis 1:10 bis 1:20. Alternativ wurde physikalisch gescherte *blunt-end* Fosmid-DNA in den *pEZSeq[™]*-Vektor mittels *pEZSeq[™] HCamp Blunt Cloning Kit* (Lucigen, Middleton, USA) nach Herstellerangaben ligiert.

5.16 Herstellung einer *Shotgun*-Plasmidbibliothek

Für die Herstellung einer *Shotgun*-Plasmidbibliothek wurde isolierte Fosmid-DNA mit einer Konzentration von etwa 1 µg/µL bis zu einer Fragmentgröße von 1 000 bis 1 500 bp im Ultraschallbad physikalisch geschert. Die Fragmentenden wurden dann mittels *DNA Terminator End Repair Kit* (Lucigen, Middleton, USA) nach Herstellerangaben repariert. Für die Größenfraktionierung wurde die DNA mittels Agarosegelelektrophorese aufgetrennt und die DNA zwischen 1 000 und 1 500 bp ohne UV-Exposition ausgeschnitten und eluiert (Kapitel 5.14). Im Anschluss

wurde die DNA in den *pUC19/SmaI*-, *pJET1.2/blunt*- oder *pEZSeq*TM-Vektor ligiert und in *Escherichia coli XL1-Blue MRF'* oder *Escherichia coli Top10* Zellen transformiert (Kapitel 5.8).

5.17 Sequenzierung

DNA wurde mittels Kettenabbruchmethode nach Sanger et al. mit dem *LI-COR*TM-, *ABI*- und *MegaBace*TM-System sequenziert (Sanger et al. 1977).

5.17.1 Das *LI-COR*TM-System

Die Sequenzierung von DNA nach dem *LI-COR*TM-System wurde mittels *Thermo Sequenase*TM *Cy5 Dye Terminator Cycle Sequencing Kit* (GE Healthcare, München) durchgeführt. Für die Sequenzierung von Plasmiden wurde 1 µg DNA eingesetzt. Nach Zugabe von 1 pmol IRDye700- und 3 pmol IRDye800-Primer und 1 µL des *dNTP/Cy5-ddNTP terminator mixes* in einem Volumen von 4 µL wurde die Probe im *MasterCycler Gradient* oder *MasterCycler Personal* (Eppendorf, Hamburg) in 30 Zyklen (3 min Denaturierung bei 95 °C, 30 Zyklen mit 20 s Denaturierung bei 95 °C, 20 s *Annealing* bei einer von der Schmelztemperatur der Primer abhängigen Temperatur und 20 s Elongation bei 72 °C und abschließend 30 s Elongation bei 72 °C) sequenziert. Im Anschluss wurden die synthetisierten Produkte mit 2 µL *formamide loading dye* versetzt.

Die elektrophoretische Auftrennung der Sequenzierreaktionen erfolgte mit dem *LI-COR*TM *4200 Sequenzierautomaten* (LI-COR Biosciences, Bad Homburg). Das 0,2 mm dicke und 48 cm lange Polyacrylamidgel wurde mittels *KB^{Plus} 5,5 % Gelmatrix* (LI-COR Biosciences, Bad Homburg) hergestellt. Als Elektrophoresepuffer wurde 0,8 x *TBE long run* verwendet.

0,8 x *TBE long run*: 0,1072 M Tris/HCl, pH 8,8

0,036 M Borsäure

2 mM Na₂EDTA

5.17.2 Das ABI-System

Die Sequenzierung von DNA nach dem ABI-System wurde mittels *DYEnamic™ ET Terminator Cycle Sequencing Kit* (GE Healthcare, München) durchgeführt. Die zu sequenzierenden PCR-Produkte wurden mittels *Wizard® SV Genomic DNA Kits* (Promega, Mannheim) nach Herstellerangaben aufgereinigt. Für die Sequenzierung von PCR-Produkten wurden 10 ng pro 1 000 bp, für die Sequenzierung von Plasmiden 2 µg und für die Sequenzierung von Fosmiden 12 µg DNA eingesetzt. Nach Zugabe von 10 pmol Primer und 2 µL des *sequencing reagent premix* in einem Volumen von 10 µL wurde die Probe im *MasterCycler Gradient* oder *MasterCycler Personal* (Eppendorf, Hamburg) in 30 Zyklen (3 min Denaturierung bei 95 °C, 30 Zyklen mit 20 s Denaturierung bei 95 °C, 20 s *Annealing* bei einer von der Schmelztemperatur der Primer abhängigen Temperatur und 1 min Elongation bei 60 °C und abschließend 4 min Elongation bei 60 °C) sequenziert. Im Anschluss wurden die synthetisierten Produkte mittels Zugabe von 26 µL ddH₂O und 64 µL 96% Ethanol 20 min bei Raumtemperatur präzipitiert. Nach 20 min Zentrifugation bei 20 000 x g und 4 °C wurden die Proben in 70% (v/v) Ethanol gewaschen, getrocknet und in 3 µL *formamid loading dye* resuspendiert.

Die elektrophoretische Auftrennung der Sequenzierreaktionen erfolgte mittels *ABI PRISM™ 377 Sequenzierautomaten* (Applied Biosystems, Foster City, USA). Das 0,2 mm dicke und 48 cm lange Polyacrylamidgel wurde nach dem unten genannten Rezept hergestellt: Als Elektrophoresepuffer wurde 1 x TBE verwendet.

Polyacrylamidgel:	22,8 mL ddH ₂ O
	5,33 mL <i>Rotiphorese® NF-Acrylamid/Bis-Lösung 40 %</i>
	(29:1)
	6 mL 10 x TBE
	300 µL 10% (w/v) APS
	20 µL TEMED
10 x TBE:	0,89 M Tris
	0,89 M Borsäure
	20 mM Na ₂ EDTA

5.17.3 Das *MegaBACE*TM-System

Die Sequenzierung von DNA nach dem *MegaBACE*TM-System wurde mittels *DYEnamic*TM *ET Dye Terminator Kit* (*MegaBACE*TM; GE Healthcare, München) durchgeführt. Die zu sequenzierenden PCR-Produkte wurden mittels *Wizard*[®] *SV Genomic DNA Kits* (Promega, Mannheim) nach Herstellerangaben gereinigt. Für die Sequenzierung von PCR-Produkten wurden 100 ng pro 1 000 bp, für die Sequenzierung von Plasmiden 1 µg und für die Sequenzierung von Fosmiden 12 µg DNA eingesetzt. Nach Zugabe von 10 pmol Primer und 2 µl des *sequencing reagent premix* in einem Volumen von 10 µL wurde die Probe im *MasterCycler Gradient* (Eppendorf, Hamburg) in 25 Zyklen nach Herstellerangaben sequenziert. Im Anschluss wurden die Proben nach Herstellerangaben präzipitiert, gewaschen, getrocknet und in 10 µl *loading solution* (GE Healthcare, München) aufgenommen.

Die elektrophoretische Auftrennung der Sequenzierreaktionen erfolgte mit dem *MegaBACE 1000 DNA Sequencer* (Global Medical Instrumentation, Minnesota, USA). In die Kapillaren wurde *MegaBACE*TM *Long Read Matrix* (GE Healthcare, München) injiziert. Als Elektrophoresepuffer wurde *MegaBACE*TM *1 x running buffer* (GE Healthcare, München) verwendet.

6 Literatur

<http://www.kazusa.or.jp/codon/>. **Kisarazu (Japan): Kazusa DNA Research Institute.**

Akman L, Yamashita A, Watanabe H, Oshima K, Shiba T, Hattori M, Aksoy S (2002). Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, *Wigglesworthia glossinidia*. **Nat Genet.** **32 (3): 402-7.**

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. **J Mol Biol.** **215 (3): 403-10.**

Andersson SG, Kurland CG (1998). Reductive evolution of resident genomes. **Trends Microbiol.** **6 (7): 263-8.**

Appleby CA (1984). Leghemoglobin and Rhizobium Respiration. **Annu Rev Plant Physiol.** **35: 443-78.**

Baumann P, Baumann L, Clark MA (1996). Levels of *Buchnera aphidicola* Chaperonin GroEL During Growth of the Aphid *Schizaphis graminum*. **Curr Microbiol.** **32: 279–85.**

Belda E, Moya A, Silva FJ (2005). Genome rearrangement distances and gene order phylogeny in γ -Proteobacteria. **Mol Biol Evol.** **22 (6): 1456-67.**

Bentley SD, Parkhill J (2004). Comparative genomic structure of prokaryotes. **Annu Rev Genet.** **38: 771-92.**

Berg OG, Kurland CG (2000). Why mitochondrial genes are most often found in nuclei. **Mol Biol Evol.** **17 (6): 951-61.**

Bergman B, Gallon JR, Rai AN, Stal LJ (1997). N_2 Fixation by non-heterocystous cyanobacteria. **FEMS Microbiol Rev.** **19 (3): 139-85.**

Berman-Frank I, Lundgren P, Falkowski P (2003). Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. **Res Microbiol.** **154 (3): 157-64.**

Bernroither M, Zamocky M, Pairer M, Furtmüller PG, Peschek GA, Obinger C (2008). Heme-copper oxidases and their electron donors in cyanobacterial respiratory electron transport. **Chem Biodivers.** **5(10):1927-61.**

Bhattacharya D and Archibald JM (2006). Response to Theissen and Martin. **Curr Biol** **16**: R1017-8.

Birnboim HC, Doly J (1979). A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. **Nucleic Acids Res.** **7 (6): 1513-23.**

Blanchard JL, Lynch M (2000). Organellar genes: why do they end up in the nucleus? **Trends Genet.** **16 (7): 315-20.**

Bradley RL, Reddy KJ (1997). Cloning, sequencing, and regulation of the global nitrogen regulator gene *ntcA* in the unicellular diazotrophic cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain BH68K. **J Bacteriol.** **179 (13): 4407-10.**

Bronstein JL, Alarcon R, Geber M (2006). The evolution of plant-insect mutualisms. **New Phytol.** **172 (3): 412-28.**

Carpenter EJ, Janson S (2000). Intracellular cyanobacterial symbionts in the marine diatom *Climacodium frauenfeldianum* (Bacillariophyceae). **J Phycol.** **36: 540-4.**

Casjens S (1998). The diverse and dynamic structure of bacterial genomes. **Annu Rev Genet.** **32: 339-77.**

Chen YB, Dominic B, Mellon MT, Zehr JP (1998). Circadian rhythm of nitrogenase gene expression in the diazotrophic filamentous nonheterocystous cyanobacterium *Trichodesmium* sp. strain IMS 101. **J Bacteriol.** **180 (14): 3598-605.**

Chepurnov VA, Mann DG, Sabbe K, Vyverman W (2004). Experimental studies on sexual reproduction in diatoms. **Int Rev Cytol.** **237: 91-154.**

Clark MA, Moran NA, Baumann P (1999). Sequence evolution in bacterial endosymbionts having extreme base compositions. **Mol Biol Evol.** **16 (11): 1586-98.**

Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, Honoré N, Garnier T, Churcher C, Harris D, Mungall K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies RM, Devlin K, Duthoy S, Feltwell T, Fraser A, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Lacroix C, Maclean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Quail MA, Rajandream MA, Rutherford KM, Rutter S, Seeger K, Simon S, Simmonds M, Skelton J, Squares R, Squares S, Stevens K, Taylor K, Whitehead S, Woodward JR, Barrell BG (2001). Massive gene decay in the leprosy bacillus. **Nature.** **409 (6823): 1007-11.**

Colón-López MS, Sherman DM, Sherman LA (1997). Transcriptional and translational regulation of nitrogenase in light-dark- and continuous-light-grown cultures of the unicellular cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain ATCC 51142. **J Bacteriol.** **179 (13): 4319-27.**

Cox MM (2007). Regulation of bacterial RecA protein function. **Crit Rev Biochem Mol Biol.** **42 (1): 41-63.**

Dagan T, Blekhman R, Graur D (2006). The "domino theory" of gene death: gradual and mass gene extinction events in three lineages of obligate symbiotic bacterial pathogens. **Mol Biol Evol.** **23 (2): 310-6.**

Dale C, Wang B, Moran N, Ochman H (2003). Loss of DNA recombinational repair enzymes in the initial stages of genome degeneration. **Mol Biol Evol.** **20 (8): 1188-94.**

de Bary AH (1878). Vortrag: Über Symbiose. In: **51. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte in Cassel.** Kassel: Baier & Lewalter. **121-6.**

Degnan PH, Lazarus AB, Wernegreen JJ (2005). Genome sequence of *Blochmannia pennsylvanicus* indicates parallel evolutionary trends among bacterial mutualists of insects. **Genome Res.** **15 (8): 1023-33.**

DeYoe HR, Lowe RL, Marks JC (1992). Effects of nitrogen and phosphorus on the endosymbiont load of *Rhopalodia gibba* und *Epithemia turgida* (Bacillariophyceae). **J Phycol.** **28: 773-7.**

Douglas AE, Raven JA (2003). Genomes at the interface between bacteria and organelles. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.** **358 (1429): 5-17.**

Doyle JJ, Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus.** **12: 13-5.**

Drum RW, Pankratz S (1965). Fine Structure of an Unusual Cytoplasmic Inclusion in the Diatom Genus, *Rhopalodia*. **Protoplasma.** **60: 141-9.**

Dufresne A, Garczarek L, Partensky F (2005). Accelerated evolution associated with genome reduction in a free-living prokaryote. **Genome Biol.** **6 (2): R14.**

Eady RR (1996). Structureminus signFunction Relationships of Alternative Nitrogenases. **Chem Rev.** **96 (7): 3013-30.**

Fares MA, Moya A, Barrio E (2004). GroEL and the maintenance of bacterial endosymbiosis. **Trends Genet.** **20 (9): 413-6.**

Floener L, Bothe H (1980). Nitrogen fixation in *Rhopalodia gibba*, a diatom containing bluegreenish inclusions symbiotically. In: **Endocytobiology: Endosymbiosis and Cell Biology, a Synthesis of Recent Research.** Schwemmler W, Schenk HEA (Hrsg.). Berlin: Walter de Gruyter & Co. 541-52.

Foth BJ, McFadden GI (2003). The apicoplast: a plastid in *Plasmodium falciparum* and other Apicomplexan parasites. **Int Rev Cytol.** 224: 57-110.

Fraser CM, Gocayne JD, White O, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD, Bult CJ, Kerlavage AR, Sutton G, Kelley JM, Fritchman RD, Weidman JF, Small KV, Sandusky M, Fuhrmann J, Nguyen D, Utterback TR, Saudek DM, Phillips CA, Merrick JM, Tomb JF, Dougherty BA, Bott KF, Hu PC, Lucier TS, Peterson SN, Smith HO, Hutchison CA 3rd, Venter JC (1995). The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. **Science.** 270 (5235): 397-403.

Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. **Biotechniques.** 26 (1):112-22, 124-5.

Gallon JR (2001). N₂ fixation in phototrophs: adaptation to a specialized way of life. **Plant Soil** 230 (1): 39-48.

Gallon JR, Cheng J, Dougherty LJ, Gallon VA, Hilz H, Pederson DM, Richards HM, Rüggeberg S, Smith CJ (2000). A novel covalent modification of nitrogenase in a cyanobacterium. **FEBS Lett.** 468 (2-3): 231-3.

Geitler L (1977). Zur Entwicklungsgeschichte der Epithemiaceen *Epithemia*, *Rhopalodia* und *Denticula* (*Diatomophyceae*) und ihre vermutlich symbiotischen Sphäroidkörper. **Plant Syst Evol** 128: 259-75.

Glatz A, Horváth I, Varvasovszki V, Kovács E, Török Z, Vigh L (1997). Chaperonin genes of the *Synechocystis* PCC 6803 are differentially regulated under light-dark transition during heat stress. **Biochem Biophys Res Commun.** 239 (1): 291-7.

Halbleib CM, Ludden PW (2000). Regulation of biological nitrogen fixation. **J Nutr.** 2000 May;130 (5): 1081-4.

Heintzelman MB (2006). Cellular and molecular mechanics of gliding locomotion in eukaryotes. **Int Rev Cytol.** 251: 79-129.

Helber JT, Johnson TR, Yarbrough LR, Hirschberg R (1988). Effect of nitrogenous compounds on nitrogenase gene expression in anaerobic cultures of *Anabaena variabilis*. **J Bacteriol.** 170 (2): 558-63.

Herrero A, Muro-Pastor AM, Flores E (2001). Nitrogen control in cyanobacteria. **J Bacteriol.** **183 (2): 411-25.**

Hoffmeister M, Martin W (2003). Interspecific evolution: microbial symbiosis, endosymbiosis and gene transfer. **Environ Microbiol.** **5: 641-9.**

Kaneko T, Sato S, Kotani H, Tanaka A, Asamizu E, Nakamura Y, Miyajima N, Hirose M, Sugiura M, Sasamoto S, Kimura T, Hosouchi T, Matsuno A, Muraki A, Nakazaki N, Naruo K, Okumura S, Shimpo S, Takeuchi C, Wada T, Watanabe A, Yamada M, Yasuda M, Tabata S (1996). Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. **DNA Res.** **3 (3): 109-36.**

Kaplan D, Peters GA (1988). Interaction of carbon metabolism in the *Azolla-Anabaena* symbiosis. **Symbiosis** **6: 53-68.**

Keeling PJ, Archibald JM. (2008). Organelle evolution: what's in a name? **Curr Biol.** **18 (8): R345-7.**

Khachane AN, Timmis KN, Martins dos Santos VA (2007). Dynamics of reductive genome evolution in mitochondria and obligate intracellular microbes. **Mol Biol Evol.** **24 (2): 449-56.**

Klasson L, Andersson SG (2004). Evolution of minimal-gene-sets in host-dependent bacteria. **Trends Microbiol.** **12 (1): 37-43.**

Klebahn H (1896). Beiträge zur Kenntnis der Auxosporenbildung, I, *Rhopalodia gibba*. **Pringsh Jahrb Wiss Bot.** **29:595-654.**

Kneip C (2004). Sphaeroidkörper der Diatomee *Rhopalodia gibba* – Obligate Endosymbionten zur molekularen Stickstofffixierung. **Dissertation. Philipps-Universität Marburg.**

Kneip C, Voß C, Lockhart PJ, Maier UG (2008). The cyanobacterial endosymbiont of the unicellular algae *Rhopalodia gibba* shows reductive genome evolution. **BMC Evol Biol.** **8:30.**

Knippers R (2001). Molekulare Genetik. **8. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.**

Kogoma T (1997). Is RecF a DNA replication protein? **Proc Natl Acad Sci U S A.** **94 (8): 3483-4.**

Kondo N, Nikoh N, Ijichi N, Shimada M, Fukatsu T (2002). Genome fragment of *Wolbachia* endosymbiont transferred to X chromosome of host insect. **Proc Natl Acad Sci U S A. 99 (22): 14280-5.**

Kooijman SA, Auger P, Poggiale JC, Kooi BW (2003). Quantitative steps in symbiogenesis and the evolution of homeostasis. **Biol Rev Camb Philos Soc. 78 (3): 435-63.**

Kowalczykowski SC (2000). Initiation of genetic recombination and recombination-dependent replication. **Trends Biochem Sci. 25 (4): 156-65.**

Kozak M (1983). Comparison of initiation of protein synthesis in procaryotes, eucaryotes, and organelles. **Microbiol Rev. 47 (1): 1-45.**

Kuhla J, Oelze J (1988). Dependence of nitrogenase switch-off upon oxygen stress on the nitrogenase activity in *Azotobacter vinelandii*. **J Bacteriol. 170 (11): 5325-9.**

Kutschera U, Niklas KJ (2005). Endosymbiosis, cell evolution, and speciation. **Theory Biosci. 124 (1): 1-24.**

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics. 23: 2947-8.**

Larsen B, Wills NM, Nelson C, Atkins JF, Gesteland RF (2000). Nonlinearity in genetic decoding: homologous DNA replicase genes use alternatives of transcriptional slippage or translational frameshifting. **Proc Natl Acad Sci U S A. 97 (4): 1683-8.**

Lawrence JG, Hendrix RW, Casjens S (2001). Where are the pseudogenes in bacterial genomes? **Trends Microbiol. 9 (11): 535-40.**

Leschine SB, Holwell K, Canale-Parola E (1988). Nitrogen Fixation by Anaerobic Cellulolytic Bacteria. **Science. 242 (4882): 1157-1159.**

Lowe TM, Eddy SR (1997). tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. **Nucleic Acids Res. 25 (5): 955-64.**

Margulis L (1970). Origin of eukaryotic cells. **New Haven (USA): Yale University Press.**

Margulis L (1990). Words as battle cries--symbiogenesis and the new field of endocytobiology. **Bioscience. 40 (9): 673-7.**

Margulis L (1993). Origins of species: acquired genomes and individuality. **Biosystems. 31 (2-3): 121-5.**

Markowitz VM, Chen IM, Palaniappan K, Chu K, Szeto E, Grechkin Y, Ratner A, Anderson I, Lykidis A, Mavromatis K, Ivanova NN, Kyrpides NC (2010). The integrated microbial genomes system: an expanding comparative analysis resource. **Nucleic Acids Res. 38:D382-90.**

Martin W, Rujan T, Richly E, Hansen A, Cornelsen S, Lins T, Leister D, Stoebe B, Hasegawa M, Penny D (2002). Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. **Proc Natl Acad Sci U S A. 99 (19): 12246-51.**

Martin W, Russell MJ (2003). On the origins of cells: a hypothesis for the evolutionary transitions from abiotic geochemistry to chemoautotrophic prokaryotes, and from prokaryotes to nucleated cells. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 358 (1429): 59-83.**

Mary I, Tu CJ, Grossman A, Vaultot D (2004). Effects of high light on transcripts of stress-associated genes for the cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Prochlorococcus* MED4 and MIT9313. **Microbiology. 150 (5): 1271-81.**

Meeks JC, Elhai J (2002). Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. **Microbiol Mol Biol Rev. 66 (1): 94-121.**

Mereschkowsky VC (1905). Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. **Biologisches Centralbl. 25: 593-604, 689-91.**

Merrick MJ, Edwards RA (1995). Nitrogen control in bacteria. **Microbiol Rev. 59 (4): 604-22.**

Moran NA (1996). Accelerated evolution and Muller's ratchet in endosymbiotic bacteria. **Proc Natl Acad Sci U S A. 93 (7): 2873-8.**

Moran NA, Mira A (2001). The process of genome shrinkage in the obligate symbiont *Buchnera aphidicola*. **Genome Biol. 2 (12): RESEARCH 0054.**

Moran NA, Plague GR (2004). Genomic changes following host restriction in bacteria. **Curr Opin Genet Dev. 14 (6): 627-33.**

Moran NA, Wernegreen JJ (2000). Lifestyle evolution in symbiotic bacteria: insights from genomics. **Trends Ecol Evol. 15 (8): 321-6.**

Morrison TB, Weis JJ, Wittwer CT (1998). Quantification of low-copy transcripts by continuous SYBR Green I monitoring during amplification. **Biotechniques. 24 (6): 954-8, 960, 962.**

Muller HJ (1964). The relation of recombination to mutational advance. **Mutat Res. 106: 2-9.**

Mullis KB (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Sci Am. 262 (4): 56-61, 64-5.**

Nakabachi A, Yamashita A, Toh H, Ishikawa H, Dunbar HE, Moran NA, Hattori M (2006). The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella*. **Science. 314 (5797): 267.**

Nakayama T, Ishida K (2009). Another acquisition of a primary photosynthetic organelle is underway in *Paulinella chromatophora*. **Curr Biol. 19(7):R284-5.**

Nelson D, Cox M (2001). Lehninger Biochemie. **3. Auflage. Berlin: Springer-Verlag.**

Newcomb W, Wood SM (1987). Morphogenesis and fine structure of *Frankia* (Actinomycetales): the microsymbiont of nitrogen-fixing actinorhizal root nodules. **Int Rev Cytol. 109: 1-88.**

Nicholas KB, Nicholas HB, Deerfield DW (1997). Genedoc: Analysis and visualization of Genetic Variation. **Embnew News. 4: 14.**

Nikoh N, Nakabachi A (2009). Aphids acquired symbiotic genes via lateral gene transfer. **BMC Biol. 7: 12.**

Nilsson AI, Koskiniemi S, Eriksson S, Kugelberg E, Hinton JC, Andersson DI (2005). Bacterial genome size reduction by experimental evolution. **Proc Natl Acad Sci U S A. 102 (34): 12112-6.**

Nix DA, Eisen MB (2005). GATA: a graphic alignment tool for comparative sequence analysis. **BMC Bioinformatics. 6: 9.**

Nowack EC, Melkonian M, Glöckner G (2008). Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. **Curr Biol. 18 (6): 410-8.**

Parkhill J, Sebaihia M, Preston A, Murphy LD, Thomson N, Harris DE, Holden MT, Churcher CM, Bentley SD, Mungall KL, Cerdeño-Tárraga AM, Temple L, James K, Harris B, Quail MA, Achtman M, Atkin R, Baker S, Basham D, Bason N, Cherevach I, Chillingworth T, Collins M, Cronin A,

Davis P, Doggett J, Feltwell T, Goble A, Hamlin N, Hauser H, Holroyd S, Jagels K, Leather S, Moule S, Norberczak H, O'Neil S, Ormond D, Price C, Rabbिनowitsch E, Rutter S, Sanders M, Saunders D, Seeger K, Sharp S, Simmonds M, Skelton J, Squares R, Squares S, Stevens K, Unwin L, Whitehead S, Barrell BG, Maskell DJ (2003). Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. **Nat Genet.** **35 (1): 32-40.**

Peters GA, Mayne BC (1974). The *Azolla*, *Anabaena* *Azollae* Relationship: I. Initial Characterization of the Association. **Plant Physiol.** **53 (6): 813-9.**

Pfeffer PE, Douds Jr DD, Becard G, Shachar-Hill Y (1999). Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. **Plant Physiol.** **120 (2): 587-98.**

Polard P, Prère MF, Chandler M, Fayet O (1991). Programmed translational frameshifting and initiation at an AUU codon in gene expression of bacterial insertion sequence IS911. **J Mol Biol.** **222 (3): 465-77.**

Precht J, Kneip C, Lockhart P, Wenderoth K, Maier UG (2004). Intracellular spheroid bodies of *Rhopalodia gibba* have nitrogen-fixing apparatus of cyanobacterial origin. **Mol Biol Evol.** **21 (8): 1477-81.**

Puig S, Andrés-Colás N, García-Molina A, Peñarrubia L (2007). Copper and iron homeostasis in Arabidopsis: responses to metal deficiencies, interactions and biotechnological applications. **Plant Cell Environ.** **30(3):271-90.**

Rabouille S, Staal M, Stal LJ, Soetaert K (2006). Modeling the dynamic regulation of nitrogen fixation in the cyanobacterium *Trichodesmium* sp. **Appl Environ Microbiol.** **72 (5): 3217-27.**

Rai AN, Söderbäck E, Bergman B (2000). Cyanobacterium-plant symbioses. **New Phytol.** **147: 449-81.**

Reddy KJ, Haskell JB, Sherman DM, Sherman LA (1993). Unicellular, aerobic nitrogen-fixing cyanobacteria of the genus *Cyanothece*. **J Bacteriol.** **175 (5): 1284-92.**

Redfield AC (1958). The biological control of chemical factors in the environment. **Am Sci.** **46: 205-21.**

Reisser W (Hrsg.; 1992). Algae and Symbiosis. **Bristol (Großbritannien): Biopress Limited.**

Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and

restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**. **230** (4732): 1350-4.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc Natl Acad Sci U S A**. **74** (12): 5463-7.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989). Molecular Cloning. A laboratory manual. **New York (USA): Cold Spring Harbor Laboratory Press**.

Schimper AFW (1885). Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde. **Jahrb f wiss Botanik**. **16**: 1-247.

Schopf JW (1993). Microfossils of the Early Archean Apex chert: new evidence of the antiquity of life. **Science**. **260**: 640-6.

Selosse M, Albert B, Godelle B (2001). Reducing the genome size of organelles favours gene transfer to the nucleus. **Trends Ecol Evol**. **16** (3): 135-41.

Shigenobu S, Watanabe H, Hattori M, Sakaki Y, Ishikawa H (2000). Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. **Nature**. **407** (6800): 81-6.

Silva FJ, Latorre A, Moya A (2001). Genome size reduction through multiple events of gene disintegration in *Buchnera* APS. **Trends Genet**. **17** (11): 615-8.

Simonsen R (1979). The Diatom System: Ideas on Phylogeny. **Bacillaria**. **2**: 9-71.

Singer GA, Hickey DA (2000). Nucleotide bias causes a genomewide bias in the amino acid composition of proteins. **Mol Biol Evol**. **17** (11): 1581-8.

Söderbäck E, Bergman B (1992). The *Nostoc-Gunnera magellanica* symbiosis: phycobiliproteins, carboxysomes and rubisco in the cyanobiont. **Physiol. Plant**. **84**: 425-32.

Spiers AJ, Bergquist PL (1992). Expression and regulation of the RepA protein of the RepFIB replicon from plasmid P307. **J Bacteriol**. **174** (23): 7533-41.

Staal M, Rabouille S, Stal LJ (2007). On the role of oxygen for nitrogen fixation in the marine cyanobacterium *Trichodesmium* sp. **Environ Microbiol**. **9** (3): 727-36.

Stanier RY, Cohen-Bazire G (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. **Annu Rev Microbiol**. **31**: 225-74.

Stein JR (Hrsg.; 1973). Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements. **Cambridge (Großbritannien): Cambridge University press. 448.**

Stoebe B, Maier UG (2002). One, two, three: nature's tool box for building plastids. **Protoplasma. 219 (3-4): 123-30.**

Tamas I, Klasson L, Canbäck B, Näslund AK, Eriksson AS, Wernegreen JJ, Sandström JP, Moran NA, Andersson SG (2002). 50 million years of genomic stasis in endosymbiotic bacteria. **Science. 296 (5577): 2376-9.**

Tatusov RL, Natale DA, Garkavtsev IV, Tatusova TA, Shankavaram UT, Rao BS, Kiryutin B, Galperin MY, Fedorova ND, Koonin EV (2001). The COG database: new developments in phylogenetic classification of proteins from complete genomes. **Nucleic Acids Res. 29 (1): 22-8.**

Thacker RW, Starnes S (2003). Host specificity of the symbiotic cyanobacterium *Oscillatoria spongelliae* in marine sponges, *Dysidea* spp. **Mar. Biol. 142: 643-8.**

Theissen U, Martin W (2006). The difference between organelles and endosymbionts. **Curr Biol. 16 (24): R1016-7.**

Thingstad TF, Havskum H, Garde K, Riemann B (1996). On the strategy of 'eating your competitor': a mathematical analysis of algal mixotrophy. **Ecology. 77: 2108-18.**

Toh H, Weiss BL, Perkin SA, Yamashita A, Oshima K, Hattori M, Aksoy S (2006). Massive genome erosion and functional adaptations provide insights into the symbiotic lifestyle of *Sodalis glossinidius* in the tsetse host. **Genome Res. 16 (2): 149-56.**

Trapp EM (2008). Analyse des Genoms sowie der stickstofffixierenden Aktivität der Diatomee *Rhopalodia gibba*. **Diplomarbeit. Philipps-Universität Marburg.**

Venn AA, Loram JE, Trapido-Rosenthal HG, Joyce DA, Douglas AE (2008). Importance of time and place: patterns in abundance of Symbiodinium clades A and B in the tropical sea anemone *Condylactis gigantea*. **Biol Bull. 215 (3): 243-52.**

Warnecke F, Luginbühl P, Ivanova N, Ghassemian M, Richardson TH, Stege JT, Cayouette M, McHardy AC, Djordjevic G, Aboushadi N, Sorek R, Tringe SG, Podar M, Martin HG, Kunin V, Dalevi D, Madejska J,

Kirton E, Platt D, Szeto E, Salamov A, Barry K, Mikhailova N, Kyrpides NC, Matson EG, Ottesen EA, Zhang X, Hernández M, Murillo C, Acosta LG, Rigoutsos I, Tamayo G, Green BD, Chang C, Rubin EM, Mathur EJ, Robertson DE, Hugenholtz P, Leadbetter JR (2007). Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. **Nature. 450 (7169): 487-8.**

Warren MJ, Raux E, Schubert HL, Escalante-Semerena JC (2002). The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B12). **Nat Prod Rep. 19 (4): 390-412.**

Welsh EA, Liberton M, Stöckel J, Loh T, Elvitigala T, Wang C, Wollam A, Fulton RS, Clifton SW, Jacobs JM, Aurora R, Ghosh BK, Sherman LA, Smith RD, Wilson RK, Pakrasi HB (2008). The genome of *Cyanothece* 51142, a unicellular diazotrophic cyanobacterium important in the marine nitrogen cycle. **Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 105 (39): 15094-9.**

Wernegreen JJ (2002). Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. **Nat Rev Genet. 3 (11): 850-61.**

Wilcox JL, Dunbar HE, Wolfinger RD, Moran NA (2003). Consequences of reductive evolution for gene expression in an obligate endosymbiont. **Mol Microbiol. 48 (6): 1491-500.**

Yates MG (1970). Control of respiration and nitrogen fixation by oxygen and adenine nucleotides in N₂-grown *Azotobacter chroococcum*. **J Gen Microbiol. 60 (3): 393-401.**

Yoon HS, Hackett JD, Ciniglia C, Pinto G, Bhattacharya D (2004). A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes. **Mol Biol Evol. 21 (5): 809-18.**

Zauner S, Lockhart P, Stoebe-Maier B, Gilson P, McFadden GI, Maier UG (2006). Differential gene transfers and gene duplications in primary and secondary endosymbioses. **BMC Evol Biol. 6: 38.**

Zehr JP, Bench SR, Carter BJ, Hewson I, Niazi F, Shi T, Tripp HJ, Affourtit JP (2008). Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. **Science. 322 (5904): 1110-2.**

Zientz E, Silva FJ, Gross R (2001). Genome interdependence in insect-bacterium symbioses. **Genome Biol. 2 (12): REVIEWS 1032.**

7 Anhang

7.1 Oligonukleotide für den Lückenschluss der Fosmide

7.1.1 Lückenschluss von SK12B6

SKcontig51_r1	5'-CTA TCT CAG AAG TTA GTC CTC AC-3'
SKcontig51_u1	5'-GGT CAT AAT GGT GGG ACA AGC CTC-3'
SKcontig 231_u1	5'-GCT CTT ATA CCA AAG ATA GGT GAG-3'
SKcontig063_rev	5'-GAT GTA AGG AAA GAG GTC-3'
SKcontig085_rev	5'-GAT GTA GTT CCA AAG AAA GGG TC-3'
S258_uni	5'-CCA TTT TAC GAT CAC CAG CCG CC-3'
S178	5'-GTC TAG AAT AGC TAA AAT TGT TGG TC-3'
S237_uni	5'-CAA TAT GTG TTA AGT ACT GAG CCC AG-3'
S93_uni	5'-CTC CAG AGT GTT TCT GCT CCT ATT CC-3'
S308_uni	5'-CGA ACT TTT CGA GGT CAT CAA GAT AT-3'
SK_J1	5'-CCA TTG TGT CCA TAA ATA TGG-3'
SK_J2	5'-CCT AAG TTC ATT AAG TTG CCG-3'
SK_J3	5'-CGT CAA GTT AAT ATC TCG TAG AAC-3'
SK_J17	5'-GAT AAT CCT AGC TAT TTT CAC AGG G-3'
S190_1	5'-GAT TCT GGC AGA TGA TTG GAG C-3'
S190_2	5'-CTA GTC AAA TAT CCC AAT TAG C-3'
SKrecA_PR1	5'-GCC TTA TAC CAA AGA TAG GTG AGG-3'
SKrecA_PR2	5'-CAA ATA CCT CTT CAA TTA TTT TTA CTT C-3'
SKrecA_PR3	5'-CGT TGT TAC TTT ATC CGT TCC CAG C-3'
SKrecA_PR4	5'-GCC CCA GAA TTC CAG TAC TAT GC-3'
SKrecA_PR6	5'-GGG AGT TAC AAT TAC TAA GAA TGC-3'
SKrecA_PR7	5'-GCT TAT CGA GTA TAT CGC TCA CAG G-3'
SKrecA_PR8	5'-GGG ACT AGC CAT TTG CTG TTC TG-3'
SKrecA_PR9	5'-GTT TGT TAA TTA ATT TTT TGG GG-3'

7.1.2 Lückenschluss von SK40G7

SK40G7LS3	5'-TCT TTA TCT ACA GAT ATT CTT CTG C-3'
SK40G7LS5	5'-ACA CCT TAT GGT TAT AAT TTA CTC C-3'
SK40G7_1	5'-AAA TTA AGT GAA GTT AGT ATT AGC C-3'
SK40G7_2	5'-ATA TTG TCT ATT TCA GTG TCT TCT G-3'
SK40G7_3	5'-TAA TCG AAA TAC AGG CTA ACT ATA G-3'
SK40G7_4	5'-TAT CAG AGA AGC TAT CAT AGA CA-3'
SK40G7_5	5'-ACA ATG GCC TCA TTC TAG CTA TAT GG-3'
SK40G7_6	5'-TCC ACT TCT AGC TAG GAC TCC TCC-3'
SK40G7_7	5'-TAT TAA ATG TAG TGC ATT ACA GTC C-3'
SK40G7_8	5'-TTT GCG GAC GGG AAG ATT TGT CC-3'
SK40G7_9	5'-TGG AAG CAC ACC ATT ATA AAC TAG C-3'

7.1.3 Lückenschluss von SKKH3-1-C

SK12B631CLI_5	5'-ACT AAA GCA GCA ATG GTG GAC AAG G-3'
SK12B631CLI_3	5'-ACC TCT GTG AGC CAG CCC AAT TCG-3'
SK12B631C1	5'-AGA TAA GGC AAC CGA CTT ACT AAC C-3'
SK12B631C2	5'-AGC TCA ACT GCT ATA CCA TTA ATG G-3'
SK12B631C3	5'-ACA ACG AAC CAT CCT TAA TTA GTG G-3'
SK12B631C4	5'-AAC GAC AGT CAT GAG TAT CTG G-3'
SK12B631C5	5'-AAT CGA CGC TCA AGT CAG AGG TGG-3'

SK12B631C6	5'-ACG TCA AAT AAT CAA TTA TGA CG-3'
SK12B631C7	5'-AAC CTC GAA TAT TGA TGA TAC G-3'
SK12B631C8	5'-TTT AAT AAC CTC GGT AGT AC-3'
SK12B631C9	5'-AAA TTG ACA GGC AAT TGA CGA TAG G-3'
SK12B631C10	5'-ATC GGT TGA TTG TGA ATG AGT CAC G-3'
SK12B631C11	5'-TAC TTA TTC TTC TTA GTT TTA ACC-3'
SK12B631C12	5'-ACG GCT ACC CTA GCA GAA GG-3'
SK12B631C13	5'-AGC GAT TAC TCG ATG TTA ACC-3'
SK12B631C14	5'-TTC TCT TTA ACA GTA TTC ATG GTC G-3'
SK12B631C15	5'-AGG TAA ATA ATT ACA TAT AAT TTG C-3'
SK12B631C16	5'-TTT ACA ATC AAC TTG GAG TAA TTG G-3'
SK12B631C17	5'-TTG TAA TCC ATA CAT TAA GTT AAC C-3'

7.1.4 Lückenschluss von SK32H8

SK32H81	5'-TGT TAG TTT TAG TTA GTT TAA ACG G-3'
SK32H82	5'-TCC GGT TAC GGT ACA ATA CC-3'
SK32H83	5'-AGC GTC TAT TCT CAC CAC CTG TTC C-3'
SK32H84	5'-AGA TAC GAT CAA GAT TGT CTA AAC C-3'
SK32H85	5'-AAG TTT GTG TTT GTC AGA ATT TGG-3'
SK32H86	5'-TTA CAT ATA ATC TTA AAC ACT GG-3'
SK32H87	5'-TTG GAA TTG TAT CAC GAC GAG C-3'
SK32H88	5'-AAT TAT GTT GAT GAA TTA ACC-3'
SK32H89	5'-TTC CAT TTC GTT AGG AAA CTC TAC C-3'
SK32H810	5'-ATA TTA CTA TCG ATA CTA TTG TAG G-3'
SK32H811	5'-AAT AAC TGC TTG GTG TAG ATA GAG C-3'
SK32H812	5'-AAA TCT GTA AAA TTA ACA CAT ATG C-3'
SK32H813	5'-AAT AAT TAG AGA TAA ATC TGT ATC G-3'
SK32H814	5'-AGG GCT ATG AAT GGT CGG TGA TAC G-3'
SK32H815	5'-TAG ATA ATT AAC TTA TTT TAG AGC-3'

7.1.5 Lückenschluss von SK40A11

SK40A11RE5'	5'-TTG AAA TGT GGA TAT TCT ATC TAG G-3'
SK40A11RE3'	5'-CCA AAT GAA TCG AGA CTG AAG C-3'
SK102LI	5'-TGT TAG AGC AAC TGG TAA AG-3'
SK282	5'-TTG GGA TTA AGT GGC TTT GAA GTG-3'
SK98RE	5'-GGA TTT CTC CTG TAG CAA CG-3'
SK98LI	5'-TAA ATA TAT CTC TCC TAA TTG C-3'
SK73RE	5'-GAA ACT TCA TAC TGA TTC TTT GG-3'
SK73LI	5'-CTC TTC AAT GAC TTC AGT ATT GG -3'
SK122	5'-GCT ACT TAG TAG GAG GAA ACA TCA C-3'
SK136/2	5'-GGA ATT GCT CGG GAT TTG CAG ATG G-3'
SK148	5'-ATG AAT ATC CAC TGA CAA CAA TAG G-3'
SK148A	5'-GAT TTT AGA GTT GGT TTC TCT TCG-3'
SK149	5'-AAT TTC CAG CAC CAA TAA AAG TTG G-3'
SK163/1	5'-GCA GTG GAA TTA TTA GCT ACT CTC-3'
SK163/2	5'-GTT ACC AAG TGC AAT TTA TAG ACG-3'
SK177	5'-GAA CAT TTA GCG TCT TAT GGT TAC G-3'
SK197	5'-AAT GAG GTG GAC TGT TAA CTT GTA C-3'
SK51/1	5'-GAA CGT AAA CGA CTG GCT ACT TTG C-3'
SK178	5'-TCA AGC AAT TAG TCT AAG CGG GAG C-3'
SK269	5'-TAT CGC TCT ATC AAG ATT CAT TGC-3'
SK141	5'-GAA GAA TAT CCA ATT CCT GTC C-3'
SK102RE	5'-TAA TGG ATA TTA ATG AGG ATT TAC G-3'
SK55/2	5'-TAC ATC ATA GGT TCA ACA AAC CTA C-3'
SK98	5'-AGT TAC TAG ATG TAG TGA ACC TAT T-3'
SK102	5'-TCG GCT CCA TGA ACA GAA GCT GCG-3'
SK55RE	5'-TTA GAA TCA CGA AGA GTA GTT ATG C-3'

SK55LI	5'-TCT ACT CTT AGT CCC ATG TTT ATT C-3'
SK419	5'-TTA TCG TAT TGG GAA TAT TAC CTT G-3'
SK54	5'-CAT AAA GAG CGG AAT CAC CTA ACT C-3'
SK75	5'-ATC TAA ATT ACG ACC TTG AGC AAC G-3'

7.1.6 Lückenschluss von SKKH26-C

26C-BL	5'-TAA CAG CGG TTG AAA TTG CGG AG-3'
26C-CL	5'-TGA ATC TAG CCC TTT ATC ACC-3'
26C-FL	5'-AGG ATT ATC TCC GGC TGA TAT TTC-3'
26C-FR	5'-TGC ATA GTT CTT TAC TAG TC-3'
26C-ÜLR	5'-ATG GTG TGA TCG TCG ATG GAC-3'
26C-HL	5'-ACG AGC CAA ATC TCC AAT GAC-3'
26C-BL2	5'-TCC TAC TAT CTA GTT CAG CC-3'
26C-AR2	5'-TAG GCG ATC ATC TGA TAG AG-3'
26C-CL2	5'-AGT ATG GCT GCC GAA ACT TCT GC-3'
26C-BR	5'-TGA AGA GTT CTG CCA AAC CTG C-3'
26C-BL3	5'-ACC TGA ATT CAC TAA CAC TAC-3'
26C-CL3	5'-TCG GAG CTG ATA GAG AGG TC-3'
26C-CR2	5'-ATA TCG TCA GCA ATC GCC ACT C-3'
26C-BL4	5'-TAA TAG AAG CTC GTG CAG G-3'
26C-CR4	5'-AGT GCA TCA TTG TTT GCC TAG-3'
26C-AB2	5'-ATC GAC TGA GTA TGA TTG GG-3'
26C-AB1	5'-AAG CTG TTC TAC TAC AAT GG-3'

7.1.7 Lückenschluss von SK5F5

SK5F5uni	5'-ACA AAC TTA TAA AGC AAT CGC TAG G-3'
SK5F5rev	5'-TTT CAT ATG TTG CAG CTT CTT TTC C-3'
SK5F5LI5	5'-ACC TTA GCC AAA CTC TAA GCT AAC C-3'
SK5F5LI3	5'-TAC AGG AAC GCT GAT AGG CGC ACC-3'
SK5F51	5'-AAC AGC AAG GTA GTT ACA AGC TCG C-3'
SK5F52	5'-TCC ATC AAG TAC AAT AAT TAA CC-3'
SK5F53	5'-AGA GCG TTA CTA CGG GAA AGT ACC-3'
SK5F54	5'-AAG TTA TAG AGT GTT TAA TTG ATT C-3'
SK5F55	5'-TAC TAC ACT AGT AAA CAG TTA TAG C-3'
SK5F56	5'-AAG AAC CTG TAG AAT CAA TTC AGG-3'
SK5F57	5'-AAT ACG GAC GAA ATT ATT ATT CTC G-3'
SK5F58	5'-AAG CAG CGA TCA CTG ATT ACA CC-3'
SK5F59	5'-AGG TAA GGT GGG CTA TGC CCA CTC G-3'
SK5F510	5'-AGC TTT CCG TAG TCC AGA GGT TCC-3'
SK5F511	5'-AAA GTT AAT TAA GCT ATA GAC TTG G-3'
SK5F512	5'-TGC CTT GTA AGA AAG TAA ACA TTC C-3'
SK5F513	5'-ACG CGA TTA AAT TTA AGT GAT ATG-3'
SK5F514	5'-AAG CCT CAG CAG AAT ACA ATT ACG G-3'
SK5F515	5'-AAC AAG AGG ATT AAA TGC TAT GAC C-3'
SK5F516	5'-TCA CTT ATA TGA ACT GTT CAG G-3'
SK5F517	5'-TTC CTA TTT CGT TAT CTT CAC CAG G-3'
SK5F518	5'-AAT CAG CGG ATG AGC TGT GGT TAG G-3'
SK5F519	5'-TTG TCC ATC GAC TAC GCT TTT CAG C-3'
SK5F520	5'-AAT GAT TTA GTT CCA TTG CTA TTC G-3'
SK5F521	5'-TCT TGA CTC TAA CTC TAA TGA CTC C-3'
SK5F522	5'-TTA CAT CCT GGA AAT CTT ATA AGT C-3'
SK5F523	5'-TAA GCT ATT GAT TGT CTA TGA GC-3'
SK5F524	5'-ATA ACT TCT ACT TCT CGT AGA TCC-3'

7.1.8 Lückenschluss von SK29A9

SK29A91	5'-AGG ATC AAC TGT ATA GTA ATT ATG G-3'
SK29A92	5'-TCT TAA CTT TAT ATC ATA TTT AAC C-3'
SK29A93	5'-AAT TCG ATA ATG ACT ATG AGG TTG G-3'
SK29A94	5'-AAA ATG GGA GTG TGA TCA CGC GAC C-3'
SK29A95	5'-GTA ACT ATT CTA GTT GAG CTT TAA C-3'
SK29A96	5'-TCA TTA TGG GTT CGC AAG AGT CC-3'
SK29A97	5'-TTT AAA GGA TCA CTC TAA TAT AG-3'
SK29A98	5'-TGG TTT ATC AAT AAA CCT AAA GTC C-3'
SK29A99	5'-ATT TAT TCT TTA ATA TTC TAT CAG C-3'
SK29A910	5'-AAT GAG GTT TGA ATG ATA ACC TCG-3'
SK29A911	5'- AAC CCT TGT TGA CTT AGA TAG TTG G-3'
SK29A912	5'-AGT AAT TTT GTT TAT TAG GGT TTC G-3'
SK29A913	5'-AGA AGA GAA AGT CGA AGA AGT TTC C-3'
SK29A914	5'-AGT TAA GTT CAC CAT GAC GAC C-3'
SK29A915	5'-AAA CGT GAT GAC ATT CGG TTT TAG G-3'
SK29A916	5'-ATA GAA GTC TAT ACT GAA ACT TTG G-3'
SK29A917	5'-ACT CAA TCG CAC AAC GCT ACT AGC-3'
SK29A918	5'-TTC TTA GTT TAA TGG ATA CAA TTT G-3'
SK29A919	5'-ACA TCA ATA AAG AAG ACA TTC GTC-3'
SK29A920	5'-AAT AAT TTT CTA ATC AGA GCT GAC C-3'
SK29A921	5'-ATT TTG AGA TTT ACT GTG AGC TAG-3'
SK29A922	5'-TCG TCT TAC TCG TAC CGA ATG TTG G-3'

7.1.9 Lückenschluss von SK8G11

SK8G11uni	5'-TTG CTT GGG ACT TAG GTA GTT ATC C-3'
SK8G111	5'-TTC GAT ACT TCC ACT CTC GAA GGA CGG-3'
SK8G112	5'-TTC TCC TTG ATT GAG AAT ATC TTC G-3'
SK8G113	5'-TTT GGT TGG TAA TTT CCG CTA TTC C-3'
SK8G114	5'-TAC TAT GAT TTT GTC ACA GCT AGC C-3'
SK8G115	5'-ACT TGG TAT GTG CTC CAC CTT AAG C-3'
SK8G116	5'-ATT AAA TAA CAT GGT GCA ACT GTC C-3'
SK8G117	5'-TCC GCA AAG TTA CTC CAC AAA TTC G-3'
SK8G118	5'-TAT CTA AAG CTA CTT CTG TAG CTC C-3'
SK8G119	5'-ATC CCT TGT GCA CTG TGC GCT ATG G-3'
SK8G1110	5'-TTA ATT TTA GGA TCT CGT TGG TTG G-3'

7.1.10 Lückenschluss von SK3B7

SK3B71	5'-ACA ATA ACT ATT CAT TCT ATT TCC-3'
SK3B72	5'-AAT TTT ACA GAT GAC AAA TTA GTC G-3'
SK3B73	5'-TAA GAA CTG TTG AAC TTG TTG TAG G-3'
SK3B74	5'-TTA ATT ACT ATC AAG TAT CTT TCT C-3'
SK3B75	5'-TTA CGT CTT GCA GTT GCT TCT CTC G-3'
SK3B76	5'-TTA ACT AGC ATC ATT AAA CAT ATG G-3'
SK3B77	5'-TCA AGC AAT TAA ACT CGT TAA CTC C-3'
SK3B78	5'-AAA GTA AAA GCA GGA ATA TAC TTG G-3'
SK3B79	5'-ACT CCT AAC GTG ATC AAC TTT GTG G-3'
SK3B710	5'-TGA TTA CTC AGA GAA AAT TCT AAC C-3'
SK3B711	5'-TGA TTG GAT TCT ATG TAA AGT ATC G-3'
SK3B712	5'-TTC ATC TTG ATA AGG TGA TCG-3'
SK3B713	5'-TCA TAG CTT TGG GAT TAA AAT CTC C-3'
SK3B714	5'-TAC TAC TAT CAA AGA TGT TCA ACG-3'
SK3B715	5'-AAG AAG CCT TTG GTG TTA GTG CTG C-3'
SK3B716	5'-TCA GTA ATG TCG GCA ACT GTC AAC C-3'

7.1.11 Lückenschluss von SK4B5

SK4B51	5'-AGA TAC CAT CGG CCG AAT CCC TGG-3'
SK4B52	5'-AGC CGG ATA AAA GTT AAT TTC TCC-3'
SK4B53	5'-TGC ATA ATT ATC TTT GAA ATC AGC C-3'
SK4B54	5'-CAG ATT CCT TAA TAG ATT CTG AAC G-3'
SK4B55	5'-CAG GAT TCC TTT ATT AGC TTT ATC C-3'
SK4B56	5'-TGT CTC TTG ATA GTT TTG GCA TCC-3'
SK4B57	5'-TCT TCG TAA TTT CGC CAT ATA ACC-3'
SK4B58	5'-TTT AAC AAT TCT TCA GCT AAG GCC-3'
SK4B59	5'-TAA TAA CTC GGT TAG CTT CAG TCG-3'
SK4B510	5'-AAG CGT TTT ATT GGT CAT ATT TTG C-3'
SK4B511	5'-AAT GAT CAC TCA AGT CGC TAA CG-3'
SK4B512	5'-ATC AGT TTG GAG ATT CGT TTC AAC C-3'
SK4B513	5'-TAA GAT ATT GAT TGC TAA ACT TTC C-3'
SK4B514	5'-ATT TTC CAA CCT GTT CCA AAT GC-3'
SK4B515	5'-TAC TGA GTC AGG TTT CTT GGT CTC G-3'
SK4B516	5'-CAG TAA TGA TGG CTT CAC CGA TTC C-3'
SK4B517	5'-TGT ATA GGG ACG AAA CAC ATC TTG C-3'
SK4B518	5'-TCT TTT AAG CTT CAT TAA GTA AAC C-3'
SK4B519	5'-AAC CCT TAT TGT GGA TAG AAG TCC-3'
SK4B520	5'-TGT ATG ACA GTC ACA GAT GGC ATC C-3'
SK4B521	5'-AAC TCA GAG TAC ACA ACG TGA CGC C-3'
SK4B522	5'-TTA GCT AAA TGC TGA CAG ACT GCC-3'
SK4B523	5'-TCG AAC ACA TAC ATC ACA ATG GTC G-3'

7.1.12 Lückenschluss von SK3E12

SK3E121	5'-TAA ATC ATT TCA ATC ATT TCT ATG C-3'
SK3E122	5'-ATT AGC TGA CTT AAA ATA TGC TGG-3'
SK3E123	5'-TTA ATC AAT TAA TTT TCA AAT AAG C-3'
SK3E124	5'-AGT TTC GTT GAT GAC TTC CTC TTC G-3'
SK3E125	5'-AAA TTG CTA GAC TCG AGG AAT TAC G-3'
SK3E126	5'-AAC CTA GCT GTC GGT AAG CAA GTG G-3'
SK3E127	5'-ATG TTC TTG ATT CAA ACC TAA TCC-3'
SK3E128	5'-TGA CCT GTA TTT TTA ACA TTT GAC C-3'
SK3E129	5'-AAC TAG AAG AGG TTC AAC TCT ATG G-3'
SK3E1210	5'-TGT TGG AAA ACT ACG TAT TCA TCC-3'
SK3E1211	5'-AGG GAT ATG TTG TGA TTT TAT CC-3'
SK3E1212	5'-TCT AAT TGG TTT TGA CAT ACT CC-3'

7.1.13 Lückenschluss von SK11F6

SK11F61	5'-AAC ATT ATC ACT AGG AAC CAG TTC G-3'
SK11F62	5'-AAC TAT TGA GCA GAT ATG GAA GG-3'
SK11F63	5'-TTG TTA ATA CAA CCC TTA TAA AGC-3'
SK11F64	5'-ACC CTT GAT TAG GAC TAA CTT CTC C-3'
SK11F65	5'-TTC TGC TTA AGA TTG AGC AAT CAG C-3'
SK11F66	5'-AGC CCT CAA TTA ACT GAT TAT AAT G-3'
SK11F67	5'-ATG GTT AGG TCT ATT TAC TGA AAC C-3'
SK11F68	5'-ATT TAT TTG CTA GTT GTT TCT ATG C-3'
SK11F69	5'-TGT AAA AGT TAA GGC TGT TCC TGC-3'
SK11F610	5'-AAT TGC CTC AAT TGA TAA ATT AAG C-3'
SK11F611	5'-AGA CAA AAC ATC AAT TTA GGA TAC G-3'
SK11F612	5'-TTG GGG CAA ACC GAC ATC TTT CC-3'
SK11F613	5'-ATC ATT ACG CTT TCC AGG TCC AAC G-3'
SK11F614	5'-TAT TTA GCT TTA GCG CTA CTT AAG G-3'
SK11F615	5'-ATT ATG ATG TTC ATA AAG AAC GAC C-3'

SK11F616	5'-ATA AGC TAA ATA ACT GTT TAC TGG-3'
SK11F617	5'-AGA AAT TTA TGG TTT TGT CCG GTG G-3'
SK11F618	5'-AGG TGC CAA CAA GAG TTA ACA TTC C-3'
SK11F619	5'-TTG CCA ATC CCC TGA TTC TAT TGG-3'
SK11F620	5'-AAG CCC TAA TAG ATA TCC TGC TTC G-3'
SK11F621	5'-TAG TAG TTT TGT GAT GCA TAA GG-3'
SK11F622	5'-TGA GTG ATC GCT CCC AAT ATT AAG G-3'

7.1.14 Lückenschluss von SK19D8

SK19D81	5'-TAG TCG TCT TCC AGC TAT TTT CAG C-3'
SK19D82	5'-ATT ACT TTA CAG CAC TTT AAT CC-3'
SK19D83	5'-ATT GTC ATT CGT TTA ACG TCT GCC-3'
SK19D84	5'-TAT CCG TCC AAC TAC CTG CTT TTC C-3'
SK19D85	5'-ATG GCG TTG CTG GTT CAG TTA ATG G-3'
SK19D86	5'-AAG CTA AAG AAT ATT TTA GAA ATC C-3'
SK19D87	5'-TCG ATA TAA TTG AAA TTG CCT TTC C-3'
SK19D88	5'-TTG CCC AAT ATG GAG CAA TTG C-3'
SK19D89	5'-TTT ATT TAT AGT CAA CTT TAT GAG C-3'
SK19D810	5'-TCC TAA TGA ATA CTG GCA ATA ATG C-3'
SK19D811	5'-TAC TCT TTT AAC TTT CCA TTG AAA C-3'
SK19D812	5'-TTG TCG TTA TTT TGA AGC TGG TCC-3'
SK19D813	5'-ACG GAC TTT ACG TAA ATT TTC TAC C-3'
SK19D814	5'-AGT CTA ATA ATT GGA TTT GTA TCC-3'
SK19D815	5'-ATC AAT CCT AAT CCT AAC GAT TCC-3'
SK19D816	5'-TAT GGA ATA ACT GGA AAA GCC ACC-3'
SK19D817	5'-AGG TTA CCT TGA TTA TCA TAA CTG G-3'
SK19D818	5'-TTT ACT ATT GCT CCT ATT AGT GG-3'
SK19D819	5'-AAT CTA CTA CCA TAA AAG GAG C-3'
SK19D820	5'-TCC AAG ATA GTT TTT CAC TAA TAT C-3'

7.1.15 Lückenschluss von SK4D1

SK4D11	5'-ATT CTG TCC CGG ATT GGT TAT CAC C-3'
SK4D12	5'-TTA ATA GTT GAT AGT TTA CAA TAG G-3'
SK4D13	5'-TGA AGG ATT TGG TAA GAA GAT GTG G-3'
SK4D14	5'-AAC ATT GCG TTG GGC ACG ATG GAC G-3'
SK4D15	5'-AAG GAA TTA TTA ACA GAC TAA TCC-3'
SK4D16	5'-TTT AAC TCA AAC TAA TTG TCA AAC C-3'
SK4D17	5'-ATC AAC TAC TAA ATA AGT GAG C-3'
SK4D18	5'-TTT CTC CTT GTT CAA TGA CAG TTC C-3'
SK4D19	5'-TTT AGG GAT TCT ACG GAA TCG TCC-3'
SK4D110	5'-TAC GAT ATT GTT TGT TAA ATC AAA CG-3'
SK4D111	5'-ATA ATG ACC ATA ACT GAA TAA ACG-3'
SK4D112	5'-TAT TAA CTA TTA TTT AGA CGA AAC C-3'
SK4D113	5'-AGT CCG TCG TAG TAA TGC CCG TAC C-3'
SK4D114	5'-TTC ATT GAA CAA GTG ATA TTT AGG-3'
SK4D115	5'-AGT GTT AAG TTG GAT ATT ATT CAG G-3'
SK4D116	5'-TGC TGC AAT TGC TGA ATT AGT CTC C-3'
SK4D117	5'-TGA TTG GAT TAC AGA CAA TTT GCC-3'
SK4D118	5'-AAG TTC TTT CTT ACT CCT CGT ACC-3'
SK4D119	5'-AGC ATC ACT GTT AAC ATC GTG TCC-3'
SK4D120	5'-TTT TTC GCC GTC ATT GGG TAA TCG G-3'
SK4D121	5'-TTG CAA TTG GTC GAA ACA TTC AGG-3'
SK4D122	5'-TTA TTC TTG CGG AAT AAA GAA CC-3'
SK4D123	5'-AAG TGT TTA GTC TCA GTG AGT TGC-3'
SK4D124	5'-ATA CTT ATC ACC TAC ATT TGC AAC C-3'
SK4D125	5'-AAT ACA GAA AAG ACT ATG AGT TTG G-3'
SK4D126	5'-TTA GTA TCG TCG GTG TGA TCG G-3'

SK4D127	5'-AGT CAT AGA CTT AAT CTT GAT TGG-3'
SK4D128	5'-AAC ATC TAC TGC TTG ATT TGC TCG-3'
SK4D129	5'-ATC GAT CGT CTA AAA TAG CTT CTC G-3'
SK4D130	5'-AAT CTT AAA CTG AGG CCA GG-3'

7.1.16 Lückenschluss von SK3B4

SK3B41	5'-ACA AAC AGT GTA TTG AAA CGC ACG-3'
SK3B42	5'-TTC TAT TCT AAC TAT CTT AGA CG-3'
SK3B43	5'-TCT CTA CAA ATT TTC TAT CAA TAG C-3'
SK3B44	5'-TGA TCG TGA ACG ACT ATA TAA CC-3'
SK3B45	5'-AAT TTC AAC AAT AAC AAT GAT TAG G-3'
SK3B46	5'-AAA TCT AGA GAA TAG CTG ATA ATC G-3'
SK3B47	5'-AGA GTT TCA ATA ATT CTA TAC CAC G-3'
SK3B48	5'-ATA ATA CTA GTC GAA GTC TCT CTG G-3'
SK3B49	5'-TTC CAT CAG CAT GAC CTA AGA CAG G-3'
SK3B410	5'-TGG TAT TGT GAA CAG TCT ATT ATC C-3'
SK3B411	5'-TTG AGC AGC TTC AGC TAG AAA GTC G-3'
SK3B412	5'-AGT ACG TTG TTC TTG ATC GAG ATC G-3'
SK3B413	5'-AGG AGC TTT TAT TTT ATA TAA TTC C-3'
SK3B415	5'-AGA TCA CTT AGT GCA TTA GAT TTG C-3'
SK3B416	5'-TTA TCC ATG ACA GCA TAA ATA TAG C-3'
SK3B418	5'-TTA AAT ATT TAC TGT TAA CG-3'
SK3B419	5'-CTG GAT TTA GTA CTC CGA TTG CTG G-3'
SK3B420	5'-ACT CCT CGG TCC TAA TGG AGC-3'
SK3B421	5'-TCT AGG ATT ATT GTA TCG AGG AAC C-3'
SK3B422	5'-TTA ATT CTT GAC AGG TTT TAT CTC C-3'
SK3B423	5'-TTC ATG CTA TGT TAG TTG CTC GTC C-3'

7.1.17 Lückenschluss von SK32A5

SK32A51	5'-ACA CTC TAG AGA AGT ATC ATT AAG G-3'
SK32A52	5'-TGA TCT GAA TCA ATT TAA AGT AAC G-3'
SK32A53	5'-TTT ACT AAT CTA AAA TAT TGT ATG G-3'
SK32A54	5'-AGC AAA TCC TGT ATA AAC TTC TGG-3'
SK32A55	5'-AGT CAT CAA CGT TCT CTA TAG AGG-3'
SK32A56	5'-TTC AAG AAA GTC ATT TAC GCA TCG C-3'
SK32A57	5'-TTG GCA AAT AAG ACA TAA TAT AGC G-3'
SK32A58	5'-TAT CTT GTA GCT CCT GCT ACC-3'
SK32A59	5'-ATC TAT CAC AAA TTT GGA AGA CC-3'
SK32A510	5'-AGC CAA TTA ATC CCA TTT CCA CTG C-3'
SK32A511	5'-TGT ATT AAG TCT CGC TGG TTA TAC C-3'
SK32A512	5'-AGA TAT CAT TAT TTG ATA GTA ACG G-3'
SK32A513	5'-AGC AGT CGA AAA CAC TCC TCA GG-3'
SK32A514	5'-AAG ATA ACC ATT GTG GAG ATA GG-3'
SK32A515	5'-ATA GCA TTC CTA TAC AAG ATT GC-3'
SK32A516	5'-ACA TAA TTT TGA TAA ATC ACA GAC G-3'
SK32A517	5'-TCA AGT AAT TAT CAA CTT ACC-3'
SK32A518	5'-AAT TTC TTA AGC CTT ATC TGA ACC-3'
SK32A519	5'-ATA ATA TTG TTG TGA GAT TAA TAG C-3'
SK32A520	5'-TGA ACA AAA TGA TTG AAA TGA AAG C-3'
SK32A521	5'-AAG CGT ATA ATT CTC ACG CAT CAG G-3'
SK32A522	5'-TAT TTA GTA CTG CAT TCA AATCTC C-3'
SK32A523	5'-TGC TAG AGT TTT CGG CAA CCA ACC-3'
SK32A524	5'-TAG GCG GCT TTG ATA TAA TCT AGG-3'
SK32A525	5'-TTG ATC GGA TTA ACC AAT ATG ATC C-3'
SK32A526	5'-TTA CTG AAA TTA CGT CAG TTT CTC C-3'
SK32A527	5'-ACT TCT GCC GGG CTA GAA GTCT GG-3'
SK32A528	5'-TTG TTC TTG ATA TTT AAA TGT CAC C-3'

SK32A529

5'-AGT TAT TTA TAT CGT ACT GTC GG-3'

7.1.18 Lückenschluss von SK42C10

SK42C101	5'-AAT TTG ACC TTA ATG ACC TTT CC-3'
SK42C102	5'-AGT GAA TTA TTG ATG GCT TGT TTG G-3'
SK42C103	5'-CTG CTT TAG GGC GTA TTG TCA TG-3'
SK42C104	5'-CAT TGA ACC AAC AGA TCT TGG-3'
SK42C105	5'-CTT AAT AGT TTA TAT CTA ACT AC-3'
SK42C106	5'-CAA CTA AAC GGT TGC GAG AGG-3'
SK42C107	5'-CCA AAC TCC CCA TAG GAC AG-3'
SK42C108	5'-CAT GGA TTG TCC CAA ACT GAC-3'
SK42C109	5'-GAA CAG CTG CTA TTC TAT CTC C-3'
SK42C1010	5'-CAC GAC AGA AAC ATT GGC GAG-3'
SK42C1011	5'-GCT AAC AAA CTT GAG CCA G-3'
SK42C1012	5'-GAC AAC CTA ATG CCT TAT ATC C-3'

7.2 Größe der sequenzierten Fosmide und ihrer *Contigs*

Fosmide	Größe (bp)
SK12B6, SK40G7 und SKKH3-1-C	101935
SK13A12, SK20A4, SK32H8 und SKKH5A	
Contig 1	55494
Contig 2	10707
Contig 3	7700
Contig 4	6260
SK40A11 und SKKH26-C	61920
SK5F5	
Contig 1	30695
Contig 2	7468
SK29A9	
Contig 1	8725
Contig 2	3806
Contig 3	3557
SK8G11	
Contig 1	7799
Contig 2	3624
SK3B7	
Contig 1	9407
Contig 2	6303
Contig 3	4315
Contig 4	2227
Contig 5	2209
SK4B5	
Contig 1	2611
Contig 2	2379
SK3E12	
Contig 1	9541
Contig 2	12024
Contig 3	12472
SK11F6	
Contig 1	8054
Contig 2	9282
Contig 3	7795
Contig 4	4289
SK19D8	
Contig 1	6318
Contig 2	5275
Contig 3	7777
Contig 4	3810
Contig 5	2634
SK4D1	
Contig 1	8028

Fosmide	Größe (bp)
<i>Contig 2</i>	5882
<i>Contig 3</i>	5666
<i>Contig 4</i>	2537
<i>Contig 5</i>	2381
SK3B4	
<i>Contig 1</i>	8120
<i>Contig 2</i>	6834
<i>Contig 3</i>	4100
<i>Contig 4</i>	2554
<i>Contig 5</i>	2307
<i>Contig 6</i>	2203
SK32A5	
<i>Contig 1</i>	7141
<i>Contig 2</i>	3988
<i>Contig 3</i>	3447
<i>Contig 4</i>	2341
<i>Contig 5</i>	2191
<i>Contig 6</i>	2161
SK42B10	
<i>Contig 1</i>	23622
<i>Contig 2</i>	6998
<i>Contig 3</i>	3134
<i>Contig 4</i>	2759
SK42C10	34686

7.3 Identifizierte ORFs des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
SK12B6, SK40G7 und SKKH3-1-C								
1	-3	1-386	glutamate 5-kinase	ATG	89%	2e-34	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001657179
2	+3	1683-2903	Alanine racemase	ATG	83%	2e-161	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515676
3	-3	4398-5639	HI0933-like protein, Fumarate reductase/succinate dehydrogenase flavoprotein-like protein	TTG	83%	4e-151	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517582
4	-2	6790-7140	hypothetical protein CY0110_07329	ATG	84%	2e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728738
5	-3	7281-7763	hypothetical protein CY0110_07324	TTG	93%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728737
6	-2	7939-9183	Putative oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase	ATG	74%	2e-134	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514856
7	-3	9219-9407	hypothetisches Protein	ATG				
8	-2	10819-12420	transcriptional regulator	ATG	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727848
9	+3	12474-12635	hypothetisches Protein	ATG				
10	+2	14504-15352	nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	ATG	82%	4e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727847
11	+2	16031-17272	tryptophan synthase subunit beta	ATG	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726743
12	+2	18254-20068	Prolyl-tRNA synthetase, bacterial	ATG	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515644
13	-1	21914-22564	hypothetical protein CY0110_10702	ATG	94%	7e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726434
14	-2	22705-23511	predicted permease	ATG	73%	5e-52	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	YP_001736091
15	-2	25243-25929	unnamed protein product	ATG	87%	6e-98	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88934
16	+3	26130-26588	Ribosomal protein L9	ATG	88%	6e-61	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516513
17	+2	28082-29230	dihydroorotate dehydrogenase	ATG	81%	4e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731587
18	-3	30900-32048	Serine--glyoxylate transaminase	ATG	88%	2e-170	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516278

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
19	-1	32369-33250	indole-3-glycerol-phosphate synthase	ATG	85%	1e-107	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730769
20	+1	33475-33663	hypothetical protein CY0110_25361	ATG	93%	7e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730770
21	+3	33648-33944	hypothetical protein CY0110_25366	ATG	86%	2e-32	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730771
22	-3	34086-35024	ribonuclease Z	GTG	90%	1e-147	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732250
23	-1	36743-37942	rod-shape-determining protein	ATG	88%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730959
24	+3	38739-40142	hypothetical protein CY0110_10662	ATG	84%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726426
25	-1	40148-40417	hypothetisches Protein	ATG				
26	+1	40405-40695	Pentapeptide repeat	ATG	55%	7e-18	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516198
27	+2	40703-41863	Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase, ATPase subunit	ATG	79%	2e-134	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516199
28	+2	42536-43672	pleiotropic regulatory protein	GTG	88%	3e-165	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729726
29	-2	47245-48993	ATP-binding protein of ABC transporter	ATG	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727571
30	-2	49774-50979	hypothetical protein CY0110_12922	ATG	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729452
31	-3	51072-51866	Tryptophan synthase, alpha chain	ATG	89%	7e-112	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00519045
32	-1	51947-52261	hypothetical protein CY0110_20313	ATG	85%	1e-24	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730045
33	-2	52300-52548	hypothetical protein CY0110_20308	ATG	91%	4e-11	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730044
34	+2	53912-55189	ABC transporter-like protein	GTG	72%	1e-134	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01628660
35	+1	55213-56406	Lipolytic enzyme, G-D-S-L	ATG	78%	2e-143	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515372
36	-1	56810-57370	Shikimate kinase	ATG	80%	2e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728985
37	-3	57534-57719	30S ribosomal protein S21	ATG	93%	1e-21	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729210
38	-1	57791-58105	Pentapeptide repeat	ATG	76%	3e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729211
39	+2	59936-60979	recombinase A	ATG	96%	4e-151	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728899

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
40	+3	61068-61787	conserved hypothetical protein	ATG	54%	1e-26	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514684
41	+3	61848-62666	Nitrilase/cyanide hydratase and apolipoprotein N-acyltransferase	ATG	92%	1e-114	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515883
42	-2	62659-63150	Holliday junction resolvase; RuvC	ATG	85%	3e-64	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729692
43	+1	65482-67176	60kD chaperonin 2	ATG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726909
44	+2	67445-68890	hypothetical protein CY0110_29769	ATG	84%	4e-178	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728686
45	+3	69039-70256	hypothetical protein CY0110_29774	ATG	83%	4e-133	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728687
46	-2	71188-71373	hypothetisches Protein	ATG				
47	-2	73531-73701	hypothetical protein CY0110_06739	ATG	66%	2e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731351
48	-3	73782-76604	Protein splicing (intein) site	ATG	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513854
49	-2	77413-78444	transaldolase	ATG	90%	2e-146	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731137
50	+2	81095-81256	hypothetisches Protein	ATG				
51	-3	81666-82118	Single-strand binding protein	ATG	67%	7e-36	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517866
52	-2	82183-84708	mannose-1-phosphate guanylttransferase	ATG	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728062
53	-1	84818-84970	hypothetisches Protein	ATG				
54	-3	85647-87242	Nickel-dependent hydrogenase, large subunit	ATG	95%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00519188
55	-3	87303-88265	[NiFe] uptake hydrogenase small subunit	ATG	95%	3e-168	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728929
56	+3	89697-90524	dimethyladenosine transferase	ATG	80%	1e-83	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728744
57	+2	90545-91414	shikimate 5-dehydrogenase	ATG	82%	2e-99	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731799
58	-1	91442-92104	16S rRNA-processing protein	ATG	66%	6e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727507
59	+1	92392-92571	hypothetisches Protein	ATG				
60	+1	92722-93645	Ap4A phosphorylase II	ATG	69%	2e-78	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730104

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
61	-2	94303-94668	hypothetical protein CY0110_10252	ATG	81%	4e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726344
62	-3	94779-95345	hypothetical protein N9414_00740	ATG	64%	3e-38	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	EAW46097
63	-2	95410-96288	hypothetical protein CY0110_01989	ATG	83%	2e-113	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728088
64	-2	97189-98148	Glutathione synthetase, prokaryotic	ATG	87%	1e-140	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514895
65	-2	98308-99201	5'-methylthioadenosine phosphorylase	ATG	92%	3e-129	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727881
66	-1	99314-100912	2-isopropylmalate synthase	ATG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729780
SK13A12, SK20A4, SK32H8 und SKKH5A								
Contig 1								
67	-1	1-301	NifZ	ATG	90%	2e-39	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516413
68	-3	288-1421	trans-homoaconitate synthase	ATG	88%	9e-164	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727755
69	-1	1469-1681	hypothetical protein CwatDRAFT_3844	ATG	90%	1e-22	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516411
70	-2	1792-2070	hypothetical protein CY0110_22372	ATG	76%	6e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727757
71	-2	2086-2817	NifP	ATG	86%	3e-99	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	AAC33374
72	-3	3306-3539	hypothetisches Protein	ATG				
73	+3	3858-5309	nitrogenase	ATG	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	AAC33370
74	+3	5313-5504	hypothetical protein CY0110_22392	ATG	72%	2e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727761
75	+1	5911-7113	NifS	ATG	88%	8e-180	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	AAC33372
76	+3	7173-7520	Fe-S cluster assembly protein NifU	ATG	72%	8e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727764
77	+1	7966-8838	dinitrogenase reductase	ATG	98%	3e-142	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47151
78	+1	9010-10446	Nitrogenase molybdenum-iron protein alpha chain: Nitrogenase component I, alpha chain	ATG	95%	1e-109	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516387
79	+2	10496-12127	beta-subunit of dinitrogenase	ATG	95%	0,0	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47153
80	+1	12304-12501	hypothetisches Protein	ATG				
81	+2	12617-14029	NifE	ATG	94%	0,0	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47154

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
82	+2	14126-15508	NifN	ATG	91%	0,0	<i>Cyanotheca</i> sp. PCC 8801	AAC35195
83	+2	15521-16000	NifX	ATG	89%	4e-49	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47156
84	+2	16076-16549	hypothetical protein	ATG	89%	9e-64	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47157
85	+3	16701-16931	Protein of unknown function DUF683	ATG	77%	3e-20	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516394
86	+1	16933-17268	NifW	ATG	84%	5e-38	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47158
87	+3	17277-18020	HesA	ATG	87%	4e-87	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47159
88	+2	18143-18502	HesB	ATG	82%	1e-41	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47160
89	+2	18545-18886	Ferredoxin (2Fe-2S)	ATG	93%	5e-42	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01620755
90	+2	19034-19411	hypothetical protein CY0110_22477	ATG	89%	1e-38	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727778
91	+3	19401-19751	hypothetical protein CY0110_22482	ATG	68%	4e-29	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727779
92	+3	19797-20009	hypothetisches Protein	ATG				
93	+3	20310-20942	iron(II) transporter	ATG	80%	4e-72	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727780
94	+1	20908-22374	iron(II) transporter	ATG	80%	5e-161	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727781
95	+2	22376-22627	FeoA family protein	ATG	90%	4e-27	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727782
96	+2	22703-24652	Molybdate ABC transporter, permease protein	ATG	81%	0,0	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727784
97	+1	24667-24951	4Fe-4S ferredoxin, iron-sulfur binding protein	ATG	93%	7e-33	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727785
98	+1	27058-27846	conserved hypothetical protein	ATG	85%	8e-56	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514027
99	-2	28936-30525	hypothetical protein CY0110_15517	ATG	93%	0,0	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01726472
100	+1	30967-31350	conserved hypothetical protein	ATG	73%	6e-34	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515293
101	-3	33462-33848	Protein of unknown function DUF1499	TTG	80%	1e-40	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514942
102	-2	34048-34581	NADH dehydrogenase (ubiquinone), 30 kDa subunit	ATG	90%	3e-87	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518733

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
103	-1	34574-35419	NADH dehydrogenase subunit B	ATG	94%	1e-125	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728727
104	-3	35385-35747	NADH-ubiquinone/plastoquinone oxidoreductase, chain 3	GTG	98%	1e-49	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518731
105	-2	36118-37530	hypothetical protein CY0110_01964	ATG	81%	2e-143	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728083
106	-3	37611-38396	ABC transporter	ATG	92%	2e-122	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516248
107	+2	38744-38986	hypothetisches Protein	ATG				
108	-2	39403-40257	hypothetical protein CY0110_11207	ATG	67%	1e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730911
109	-2	40261-40680	Penicillinase repressor	ATG	89%	1e-54	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514471
110	-1	40754-41593	Diaminopimelate epimerase	ATG	82%	4e-103	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514083
111	+3	42027-42701	two-component response regulator	ATG	85%	2e-84	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729947
112	+1	42742-42951	hypothetical protein CY0110_21717	ATG	85%	8e-26	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727626
113	+1	43063-43536	hypothetical protein CY0110_12192	ATG	86%	6e-61	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731170
114	-3	43641-44775	hypothetical protein CY0110_04628	ATG	92%	2e-158	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730205
115	+1	45710-46411	Orotidine 5'-phosphate decarboxylase	ATG	85%	4e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516222
116	+3	46375-46956	hypothetical protein CY0110_10137	ATG	72%	6e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726321
117	+3	48421-49512	hypothetical protein CY0110_29024	ATG	89%	4e-115	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732518
118	-1	49627-51966	UvrD/REP helicase	ATG	81%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517150
119	-1	52912-53085	hypothetisches Protein	ATG				
120	+2	53440-54111	pathogenesis related protein-like	ATG	88%	2e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727851
Contig 2								
121	+2	1-976	hypothetical protein CwatDRAFT_3418		87%	2e-149	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516541.1
122	-2	1359-2486	S-adenosyl methionine: tRNA ribosyltransferase-isomerase	ATG	82%	4e-143	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729614
123	+2	2594-2983	hypothetical protein CwatDRAFT_2504	ATG	91%	4e-60	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516794

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
124	+2	3308-4669	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	ATG	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513730
125	-1	5653-6093	hypothetical protein CY0110_12077	ATG	88%	3e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731459
126	+2	7583-8683	FAD dependent oxidoreductase	ATG	75%	9e-115	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517000
127	-3	9041-9793	hypothetical protein CY0110_20143	ATG	87%	7e-95	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730011
Contig 3								
128	+3	1-215	NADH-plastoquinone oxidoreductase, subunit I:NADH-quinone oxidoreductase, chain I		92%	3e-29	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513936
129	+1	322-924	NADH-ubiquinone/plastoquinone oxidoreductase, chain 6	ATT	86%	6e-74	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513937
130	+2	956-1267	NADH-ubiquinone oxidoreductase, chain 4L	ATG	95%	3e-31	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513938
131	-2	1277-1861	Conserved hypothetical Membrane Protein	ATG	73%	4e-43	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	YP_001733621
132	+3	4149-4439	hypothetical protein CY0110_28624	ATG	83%	3e-33	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732407
133	+2	4565-6562	ABC-1	ATG	86%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516099
Contig 4								
134	-1	327-1271	GTP-binding protein Era	ATG	86%	8e-132	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728587
135	-3	1336-1803	Adenylate cyclase	ATG	83%	1e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729361
136	-3	3151-3312	hypothetisches Protein	ATG				
137	+2	3599-5392	Small GTP-binding protein domain:GTP-binding protein TypA	ATG	96%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514387
SK40A11 und SKKH26-C								
138	-2	1-523	hypothetical protein CY0110_02454	ATG	75 %	1e-51	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728181
139	+1, +3	2299-3938	apolipoprotein N-acyltransferase	ATG	80 %, 72 %	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727431
140	-3	5476-5655	hypothetisches Protein	ATG				
141	+1	6553-6708	hypothetisches Protein	ATG				
142	-3	7324-7476	hypothetisches Protein	ATG				
143	+3	7485-8402	periplasmic binding protein component of an ABC type zinc uptake transporter	ATG	74%	1e-91	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728624

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
144	+1	8434-9210	ABC transporter	ATG	84%	3e-92	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728623
145	+2	9203-10030	hypothetical protein CY0110_29449	ATG	87%	1e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728622
146	+2	10568-12259	hypothetical protein CY0110_03629	ATG	74%	5e-174	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727526
147	-3	13405-14439	hypothetical protein CY0110_21450	ATG	89%	4e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731992
148	+1	14986-16467	Orn/Lys/Arg decarboxylase, major region:Orn/Lys/Arg decarboxylase, C-terminal	ATG	76%	6e-168	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518300
149	+1	16750-17568	Peptidase S49, SppA	ATG	93%	2e-123	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727469
150	+1	17575-17991	chorismate mutase	ATG	86%	3e-50	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	ACB00514
151	+2	18692-18973	hypothetical protein CwatDRAFT_0675	ATG	79%	1e-21	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518983
152	-2	19124-20377	hypothetical protein CY0110_05929	ATG	88%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730436
153	-3	20413-21480	put. ATPase	ATG	92%	1e-149	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730437
154	-2	22358-22951	fibrillin	ATG	88%	9e-82	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728000
155	-1	23094-23798	Ferredoxin-dependent bilin reductase	ATG	75%	3e-77	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516672
156	+3	24036-24203	Twin-arginine translocation protein TatA/E	ATG	83%	3e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727998
157	+2	25271-26560	phosphopyruvate hydratase	ATG	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727912
158	-1	26856-29237	penicillin-binding protein 1A	TTG	77%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728717
159	+1	32444-33838	fumarate hydratase	ATG	88%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730416
160	+1	35609-36751	recombination protein F	ATG	85%	3e-126	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728577
161	+3	37051-38625	DNA ligase	ATG	54%	4e-56	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731333
162	-3	39431-40567	hypothetical protein CY0110_12577	ATG	78%	3e-126	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729383
163	-1	41056-41262	hypothetisches Protein	ATG				
164	+2	41283-41492	hypothetical protein CY0110_12567	ATG	88%	3e-18	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729381

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
165	+1	42572-44155	Lysyl-tRNA-Synthetase	ATG	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729379
166	+3	46342-46806	hypothetical protein CY0110_30613	ATG	88%	3e-35	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730397
167	-2	46803-47144	hypothetical protein CwatDRAFT_6741	ATG	81%	7e-36	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00513536
168	+1	47978-49117	Conserved hypothetical protein 423	ATG	84%	6e-152	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515906
169	-1, -3	49408-50677	phosphoribosylamine--glycine ligase	GTG	73%, 70%	2e-130	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_682629
170	-1	50785-51075	hypothetical protein CY0110_10072	ATG	69%	6e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726308
171	-3	51872-52042	hypothetisches Protein	ATG				
172	-2	53118-53270	hypothetisches Protein	ATG				
173	-1	53323-54840	glucose-methanol-choline-oxidoreductase	ATG	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514443
174	-1, -2	54894-55497	cytochrome c oxidase, subunit III	ATG	86%, 83%	3e-76	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514442
175	-3	55568-57247	cytochrome-c oxidase	ATG	95%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514441
176	-2	57372-58259	cytochrome c oxidase, subunit II	ATG	86%	6e-118	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514440
177	-3	58322-58963	conserved hypothetical protein	ATG	90%	7e-82	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514439
178	-1	58963-59463	conserved hypothetical protein	ATG	95%	3e-67	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514438
179	+2	60285-60437	hypothetisches Protein	ATG				
180	+1	60461-61828	FAD-dependend pyridine nukleotide-disulphide oxidoreductase	ATG	94%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514436
SK5F5								
Contig 1								
181	+1	109-1560	F0F1 ATP synthase subunit beta	ATG	95%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727741
182	+1	1660-2070	F0F1 ATP synthase subunit epsilon	ATG	81%	7e-38	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727740
183	-3	2146-2475	Plastid and cyanobacterial ribosomal protein PSRP-3/Ycf65	TTG	90%	1e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518462
184	-2	2528-3238	peptidyl-tRNA hydrolase	ATG	85%	1e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729747

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
185	+3	3336-4970	phosphoglucomutase	ATG	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728338
186	-2	6380-7213	TPR repeat protein	ATG	72%	3e-74	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728262
187	-3	8521-8724	hypothetisches Protein	ATG				
188	+1	14461-15696	Aminotransferase, class I and II	ATG	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517710
189	-1	15798-17219	6-phosphogluconate dehydrogenase	ATG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727589
190	+2	19454-20023	adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase	ATG	76%	3e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727582
191	+2	20084-20557	hypothetical protein CY0110_03874	ACG	69%	1e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727575
192	-3	20569-21048	unnamed protein product	ATG	90%	1e-67	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO87956
193	+1	22762-22932	hypothetisches Protein	ATG				
194	-1	23907-24689	hypothetical protein CY0110_20970	ATG	84%	7e-106	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732255
195	-3	24748-25482	hypothetical protein CY0110_20965	ATG	82%	3e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732254
196	+2	25937-26986	Glycine cleavage T protein	ATG	80%	2e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516133
197	+3	28644-29849	Oxidoreductase, N-terminal:Oxidoreductase, C-terminal	ATG	87%	1e-161	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517735
<i>Contig 2</i>								
198	-3	249-2558	Pyruvate,water dikinase	GTG	67%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518638
199	-1	3395-4432	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	ATG	89%	6e-163	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730654
200	+3	5019-7427	putative phosphoketolase	ATG	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730652
SK29A9								
<i>Contig 1</i>								
201	+3	2109-4841	aconitate hydratase	ATG	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726634
202	-1	7799-7984	hypothetisches Protein	ATG				
<i>Contig 2</i>								
203	+3	510-1415	Heat shock protein DnaJ, N-terminal	ATG	62%	3e-76	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516921

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
<i>Contig 3</i>								
204	+2	1-574	glycogen branching enzyme		85%	3e-69	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_442003
205	-2	665-1447	hypothetical protein CY0110_07099	ATG	81%	9e-45	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730606
206	+1	1558-2196	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	ATG	85%	1e-86	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516266
207	-2	2399-3557	Type III restriction enzyme, res subunit		89%	2e-170	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732137
SK8G11								
<i>Contig 1</i>								
208	+1	67-693	Cupin region	ATG	77%	2e-70	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728391
209	-1	1770-1925	hypothetisches Protein	ATG				
210	-1	2961-3860	hypothetical protein CY0110_20820	ATG	86%	1e-122	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730588
211	+2	4085-7799	Protein of unknown function DUF490	ATG	68%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514272
<i>Contig 2</i>								
212	-3	1-774	K ⁺ -dependent Na ⁺ /Ca ⁺ exchanger related-protein	ATG	85%	3e-79	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516320
213	+1	1976-2989	Conserved hypothetical protein 730	ATT	85%	2e-144	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513670
214	+2	3117-3624	Prolipoprotein diacylglycerol transferase	ATG	91%	1e-57	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514940
SK3B7								
<i>Contig 1</i>								
215	-2	272-808	translation initiation factor IF-3	ACG	94%	1e-72	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730672
216	-3	1654-2316	methionine sulfoxide reductase A	ATG	83%	2e-94	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_321699
217	+1	4402-5133	Precorrin-2 C20-methyltransferase	ATG	77%	7e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513836
218	+2	5282-5539	hypothetical protein CY0110_03279	ATG	67%	1e-16	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727456
219	-3	6616-6954	hypothetical protein CY0110_24711	ATG	76%	4e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728355
220	+1	7498-8982	Peptidase M50	ATG	84%	7e-179	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730710
<i>Contig 2</i>								
221	-2	1-239	COG0557: Exoribonuclease R	ATG	91%	9e-30	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108591
222	+2	422-586	hypothetisches Protein	ATG				
223	+3	855-1139	hypothetisches Protein	ATG				

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
224	-1	2593-3291	ATP-dependent protease; ClpP	ATG	96%	7e-98	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_442765
225	+1	5101-5970	Aminoglycoside phosphotransferase:Fructosamine kinase	ATG	81%	1e-107	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516755
226	-3	6032-6303	hypothetical protein CwatDRAFT_1694		78%	6e-18	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517934
Contig 3								
227	-1	647-1654	UDP-glucose 4-epimerase	ATG	90%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731273
228	-2	2209-2424	hypothetisches Protein	ATG				
229	+3	2502-4178	Sulfate transporter/antisigma-factor antagonist STAS: Sulphate transporter	ATG	85%	0.0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516813
Contig 4								
230	-2	1-504	transcription antitermination protein NusG	ATG	91%	1e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731036
231	-3	504-740	SecE subunit of protein translocation complex	GTG	80%	2e-21	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731037
232	-2	955-1317	Ribosomal protein L19	ATG	94%	2e-55	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517492
233	+2	1637-1789	hypothetisches Protein	ATG				
Contig 5								
234	+2	1-1201	protein conferring resistance to acetazolamide; Zam		87%	3e-166	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730621
235	+1	1228-2025	hypothetical protein CwatDRAFT_1836	GTG	75%	9e-72	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517852
SK4B5								
Contig 1								
236	-1	1-460	hypothetical protein CY0110_02577	ATG	75%	7e-47	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731645
237	-2	457-1023	nicotinic acid mononucleotide adenylyltransferase	ATG	89%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731646
Contig 2								
238	-2	567-2379	unnamed protein product		79%	0,0	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO87158
SK3E12								
Contig 1								
239	-1	1-632	Glycosyltransferase	TTG	89%	2e-90	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727940
240	+3	960-2756	hypothetical protein CY0110_23856	ATG	74%	1e-180	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727942
241	+3	2760-4976	similar to integral membrane protein	ATG	68%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516839
242	+1	4990-5721	Methyltransferase type 12	ATG	64%	5e-52	<i>Methylobacterium</i> sp. 4-46	ZP_01847360

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
243	+1	5734-7860	hypothetical protein CY0110_23861	ATG	77%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727943
244	-3	7929-9497	hypothetical protein CY0110_11782	ATG	71%	3e-150	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729364
<i>Contig 2</i>								
245	+2	80-814	ABC transporter-like protein	ATG	85%	3e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731636
246	+1	2461-3183	Pyridoxal phosphate biosynthetic protein PdxJ	TTG	92%	4e-110	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516470
247	+3	3264-3536	hypothetical protein CY0110_16032	ATG	70%	2e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726575
248	-2	3591-4670	hypothetical protein CY0110_16047	ATG	54%	2e-46	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726578
249	+2	5936-6262	hypothetical protein CY0110_13536	ATG	50%	1e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729043
250	+2	7136-8365	acetate/propionate kinase	ATG	85%	2e-167	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731389
251	-3	8852-9037	hypothetical protein CY0110_26008	ATG	70%	8e-13	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728873
252	+1	10051-11550	hypothetical protein CY0110_00035	ATG	75%	4e-171	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728459
<i>Contig 3</i>								
253	-1	299-598	ferredoxin, 2Fe-2S	ATG	96%	1e-37	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728462
254	+3	963-1970	Oxidoreductase, N-terminal	ATG	74%	2e-96	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518400
255	-3	2526-2897	hypothetical protein CY0110_20815	GTG	87%	5e-29	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730587
256	+2	5024-8626	hypothetical protein CY0110_11807	ATG	74%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729369
257	+2	9080-12085	hypothetical protein CY0110_11797	ATG	86%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729367
258	+1	12085-12472	hypothetical protein CY0110_11792	ATG	96%	1e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729366
SK11F6								
<i>Contig 1</i>								
259	-3	676-1323	Holliday junction DNA helicase motor protein	GTG	84%	3e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727895
260	+2	1409-1588	hypothetisches Protein	ATG				
261	+1	1825-1995	hypothetisches Protein	ATG				
262	-3	2935-3708	hypothetical protein CY0110_06329	ATG	88%	3e-105	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730730

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
263	-1	4656-6056	hypothetical protein CY0110_08681	ATG	69%	2e-104	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731505
264	-1	6135-6632	unknown protein	ATG	78%	6e-43	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514976
265	+2	7337-7849	inorganic pyrophosphatase	GTG	96%	8e-84	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728361
Contig 2								
266	+1	241-1164	Conserved hypothetical protein YfcH	ATG	82%	6e-121	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513853
267	+2	1418-2212	Bvg accessory factor	ATG	69%	7e-61	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513606
268	+1	2935-4620	dihydroxy-acid dehydratase	ATG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728069
269	-3	5210-5458	hypothetical protein CwatDRAFT_4009	TTG	68%	6e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515929
270	+3	6003-7178	hypothetical protein CY0110_09385	ATG	95%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731802
271	-2	8544-9215	cytochrome c oxidase subunit III	ATG	90%	9e-88	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727475
Contig 3								
272	+3	1095-1259	hypothetisches Protein	ATG				
273	-2	1795-3597	aspartate kinase	ATG	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727500
274	+2	4070-5668	Phosphoglycerate mutase, 2,3-bisphosphoglycerate-independent	ATG	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518183
275	+2	5693-5929	protein-export membrane protein	ATG	90%	4e-18	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732092
276	+2	6023-6826	Peptidase, metallopeptidase	ATG	73%	4e-71	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726282
277	+1	6940-7104	hypothetisches Protein	ATG				
278	-1	7268-7624	hypothetical protein CwatDRAFT_2236	ATG	90%	3e-50	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517581
Contig 4								
279	+3	21-332	10 kDa chaperonin	ATG	97%	1e-46	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	Q8L373
280	+1	466-2088	chaperonin GroEL	ATG	94%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732054
281	-2	2609-2962	hypothetisches Protein	ATG				
282	-3	2962-4098	4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase	ATG	84%	6e-149	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730581
SK19D8								

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
<i>Contig 1</i>								
283	+2, +3	1-232	O-methyltransferase		86%, 100%	2e-11	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01631738
284	+3	705- 2567	acetolactate synthase III large subunit	ATT	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731805
285	-1	2965- 3795	unknown protein	ATG	74%	3e-89	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515289
286	+2	5381- 6103	UDP-N-acetyl-D-mannosaminuronic acid transferase	ATG	82%	7e-89	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727944
<i>Contig 2</i>								
287	-1	781- 1056	hypothetical protein CY0110_29334	ATG	87%	2e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728599
288	-1	1607- 1843	hypothetisches Protein	ATG				
289	+3	2187- 3149	porphobilinogen deaminase	ATG	89%	9e-136	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730102
290	-3	3240- 4274	Coproporphyrinogen oxidase	ATG	86%	2e-166	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515789
<i>Contig 3</i>								
291	-2	1222- 2157	4Fe-4S cluster binding protein	ATG	83%	4e-130	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731487
292	-1	2762- 3358	isopropylmalate isomerase small subunit	ATG	84%	2e-80	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729727
293	-2	4016- 5362	Phosphoglycerate/bisphosphoglycerate mutase	GTG	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516526
294	+3	5445- 7022	hypothetical protein CY0110_06259	ATG	77%	6e-177	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730716
295	+2	7049- 7777	hypothetical protein CY0110_06254	ATG	81%	1e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730715
<i>Contig 4</i>								
296	+2	1592- 2041	hypothetical protein slr0941	ATG	90%	5e-66	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_441721
297	+2	2102- 3133	Thiamine monophosphate synthase	ATG	82%	1e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516113
298	+3	3216- 3443	hypothetical protein CY0110_27059	ATG	79%	6e-22	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731135
283	+2	3452- 3810	O-methyltransferase	ATG	83%	7e-44	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01631738
<i>Contig 5</i>								
299	-3	1-145	hypothetical protein CY0110_28514	ATG	85%	2e-07	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728298
300	+1	199-363	hypothetisches Protein	ATG				
301	-1	742- 1494	hypothetical protein CY0110_27934	ATG	87%	2e-89	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731844

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
302	+3	1635-2634	aspartate aminotransferase	ATG	87%	2e-137	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01731669
SK4D1								
Contig 1								
303	-2	1-191	7-cyano-7-deazaguanine reductase	ATG	82%	5e-17	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_324909
304	-3	239-1543	GAF:ATP-binding region, ATPase-like:Histidine kinase A, N-terminal	ATG	67%	9e-96	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00516703
305	+2	1775-2104	hypothetical protein CY0110_17722	TTG	91%	3e-43	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01726913
306	-2	2211-2765	hypothetical protein CwatDRAFT_3009	GTG	70%	8e-33	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00516702
307	-2	2838-3230	hypothetical protein CwatDRAFT_1945	ATG	77%	4e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00517675
308	-1	3463-3891	hypothetical protein CwatDRAFT_4564	ATG	74%	2e-28	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00515492
309	-2	4101-6257	polynucleotide phosphorylase/polyadenylase	ATG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01731846
310	+2	7862-8028	amino acid permease-associated region	ATG	85%	4e-12	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_721631
Contig 2								
311	-3	718-2466	hypothetical protein CY0110_28569	ATG	78%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01728309
312	-3	2782-3453	Phosphate uptake regulator, PhoU	GTG	85%	1e-87	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01728310
313	+2	3890-4684	methionine aminopeptidase	ACG	90%	1e-112	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01731738
Contig 3								
314	-3	1-228	Hydrogenase accessory protein HypB	ATG	63%	1e-09	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01730394
315	-3	232-570	Hydrogenase expression/synthesis, HypA	ATG	85%	9e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00515457
316	+1	1948-2694	Two component Transcriptional regulator, Winged helix family protein	ATG	97%	7e-127	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01730213
317	+1	2944-4671	DNA mismatch repair protein	ATG	76%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01730214
318	-1	5562-5666	7-cyano-7-deazaguanine reductase		90%	2e-08	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001518648
Contig 4								
319	-1	702-1490	hypothetical protein N9414_03688	ATG	76%	2e-87	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	XP_01630910
Contig 5								
320	-2	365-1273	Phosphatidate cytidyltransferase	ATG	91%	3e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	XP_00517082
321	-3	1435-2109	precorrin-6B methylase	ATG	88%	3e-87	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	XP_01732094

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
322	-1	2121-2381	queuine tRNA-ribosyltransferase		91%	6e-36	<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942	CAD55621
SK3B4								
Contig 1								
323	+3	1-1979	Polyphosphate kinase		91%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514035
324	-2	2057-3421	UDP-N-acetylmuramoylalanyl-D-glutamyl-2,6-diaminopimelate--D-alanyl-D-alanine ligase	ATG	80%	8e-166	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728164
325	+2	4436-5227	hypothetical protein CY0110_11262	ATG	73%	8e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730922
326	+2	6770-6934	hypothetisches Protein	ATG				
327	-2	7217-8120	Dihydrouridine synthase TIM-barrel protein nifR3		91%	2e-125	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518361
Contig 2								
328	+3	1-206	hypothetical protein CY0110_27505		92%	1e-20	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729528
329	-2	627-1604	ABC transporter	ATG	86%	3e-124	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728713
330	-3	1634-2620	similar to Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases	ATG	87%	8e-133	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515860
331	-1	3736-4497	hypothetical protein CY0110_24206	ATG	85%	2e-98	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728012
332	-1	6178-6834	Gamma-glutamyl phosphate reductase GPR		88%	2e-94	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515125
Contig 3								
333	+2	728-2416	hypothetical protein CY0110_24196	ATG	69%	1e-146	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728010
Contig 4								
334	+2	1-610	CBS:Cl- channel, voltage gated:UspA		84%	1e-78	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516804
335	-3	1149-2069	inorganic polyphosphate/ATP-NAD kinase	GTG	92%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729455
Contig 5								
336	+3	1425-1934	hypothetical protein CY0110_27495	ATG	84%	5e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729526
337	+1	2014-2307	ABC transporter	ATG	92%	3e-41	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_440037
Contig 6								
338	-3	1-641	monophosphatase	ATG	84%	5e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728945
339	+2	962-1159	hypothetical protein CwatDRAFT_2493	ATG	72%	1e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516808
SK32A5								
Contig 1								
340	+2	1379-2734	hypothetical protein CY0110_11532	ATG	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729314

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
341	-3	3831-4835	Phenylalanyl-tRNA synthetase, alpha subunit	ATG	92%	2e-144	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517188
342	+3	5109-5924	stationary phase survival protein SurE	ATG	89%	2e-120	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732006
343	+2	5990-6571	hypothetical protein CY0110_21515	ATG	82%	2e-69	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732005
344	+1	6613-7140	unnamed protein product	ATG	87%	3e-66	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO90133
Contig 2								
345	+1	1-135	hypothetical protein CY0110_21702		77%	5e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727623
346	-3	810-1814	COG0438: Glycosyltransferase	ATG	85%	5e-131	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108205
Contig 3								
347	-1	1-489	hypothetical protein CY0110_29369	ATC	75%	9e-55	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728606
348	-2	1047-2858	Excinuclease ABC, C subunit	ATC	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516909
349	+1, +3	3160-3422	permease protein of sugar ABC transporter	ATG	73%, 80%	7e-15	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01623601
Contig 4								
350	-1	1466-2341	hypothetical protein CY0110_11127		81%	2e-102	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730895
Contig 5								
345	+1	1-2181	hypothetical protein CY0110_21702		76%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727623
Contig 6								
351	-3	189-599	conserved hypothetical protein	ATG	80%	4e-45	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514891
352	+2	1655-2161	Phosphoglucosamine mutase	ATG	79%	6e-60	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515797
SK42B10								
Contig 1								
353	+1	25-270	ATP synthase F0, C subunit	ATG	97%	8e-24	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513999
354	+1	529-960	H ⁺ -transporting two-sector ATPase, B/B' subunit	ATG	88%	1e-34	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514000
355	+2	998-1534	ATPase subunit b	ATG	75%	4e-41	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	CAA41133
356	+2	1538-2095	F0F1 ATP synthase subunit delta	ATG	82%	5e-60	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_440056
357	+2	2144-3655	ATP synthase subunit A	ATG	96%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY011091	ZP_01726959
358	+3	3750-4694	H ⁺ -transporting two-sector ATPase, gamma subunit	ATG	91%	2e-129	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514004
359	+3	5781-6461	deoxyribose-phosphate aldolase	ATG	85%	6e-87	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001661137

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
360	+1	6481-7326	DNA repair protein RecO	ATG	71%	1e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730053
361	+2	7454-8848	hypothetical protein CY0110_08676	ATG	87%	2e-169	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731504
362	+3	14739-16037	Biotin/lipoyl attachment:Catalytic domain of components of various dehydrogenase complexes:E3 binding	ATG	79%	3e-148	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516546
363	-1	17410-17805	hypothetical protein CY0110_22257	GTG	81%	8e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727734
364	-2	17808-18170	similar to Gas vesicle protein	ATG	89%	2e-25	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518785
365	+1	18286-19836	bifunctional phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	ATG	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729789
366	-3	19973-22228	penicillin-binding protein 1B	ATG	81%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729032
367	+3	22677-22997	hypothetical protein CY0110_09026	ATG	72%	2e-24	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731590
Contig 2								
368	-2	146-808	hypothetical protein Tery_0197	ATG	77%	6e-65	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_720159
369	+1	1219-1914	circadian oscillating polypeptide COP23 precursor	ATG	84%	5e-70	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	AAC44136
370	+3	2487-3827	Protein of unknown function UPF0004:tRNA-i(6)A37 modification enzyme MiaB	ATG	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515902
Contig 3								
371	+1	517-798	phosphoribosylformylglycinamide synthase subunit PurS	ATG	91%	1e-32	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726304
372	+1	805-1497	phosphoribosyl formylglycinamide synthase	ATG	88%	6e-103	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726303
373	+2	1613-2578	cysteine synthase	ATG	95%	9e-137	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730299
Contig 4								
374	-1	102-950	formamidopyrimidine-DNA glycosylase	GTG	81%	3e-100	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728558
375	+1	1285-1707	hypothetical protein CwatDRAFT_6283	ATG	76%	8e-32	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513997
376	+3	1764-2507	H+-transporting two-sector ATPase, A subunit	ATG	94%	8e-102	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513998
SK42C10								
377	-3	1- 397	Dienelactone hydrolase	ATG	90%	4e-56	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727552
378	-2	825-1811	hypothetical protein CY0110_27790	ATG	75%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729585

ORF	Leserahmen	Position	Homologie	Startkodon	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.
379	+1, +2	2152-2599	ankyrin repeat domain-containing protein 50	ATG	68%, 63%,54%, 56%, 59%	6e-16; 1e-04; 0,014; 0,014; 0,023	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001659476
380	-3	3593-4846	competence damage-inducible protein A	ATG	86%	8e-174	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727831
381	-1	5140-5691	Uracil phosphoribosyltransferase	ATG	97%	9e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513534
382	+1	5872-6744	hypothetical protein CY0110_12082	ATG	76%	2e-86	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731460
383	+1	8476-9744	S-adenosylmethionine synthetase	TTG	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730902
384	-2	9825-10049	hypothetical protein CY0110_12307	ATG	81%	1e-22	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731193
385	-3	10346-11317	Pyridoxal-5'-phosphate-dependent enzyme, beta subunit	ATG	96%	1e-158	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729352
386	+3	12189-13754	hypothetical protein CY0110_04004	ATG	83%	3e-175	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727601
387	+3	17631-18278	hypothetical protein CY0110_03209	ATG	88%	2e-82	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727442
388	+2	18359-18979	hypothetical protein CY0110_03214	ATG	89%	3e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727443
389	-3	20234-20386	hypothetisches Protein	ATG				
390	+2	21305-23242	hypothetical protein CY0110_29874	ATG	80%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728707
391	+2	24545-25213	hypothetical protein CY0110_28849	ATG	81%	1e-74	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730177
392	+3	25362-25562	hypothetisches Protein	ATG				
393	-2	26106-26636	hypothetical protein CY0110_16257	ATG	90%	8e-67	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726620
394	+2	26855-27493	imidazoleglycerol-phosphate dehydratase	ATG	91%	2e-92	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726612
395	-2	28656-30284	bifunctional GMP synthase/glutamine amidotransferase protein	GTG	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731927
396	-1	30517-31611	hypothetical protein CY0110_11032	ATG	81%	3e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731621
397	+3	31668-32324	Conserved hypothetical protein 91	TTG	77%	1e-74	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515971
398	-3	34052-34686	glutamine-binding protein of glutamine ABC transporter		79%	4e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729732

7.4 Identifizierte Pseudogene des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
SK12B6, SK40G7 und SKKH3-1-C							
1	-1, -2	629-1491	putative transposase	64%, 68%	1e-64	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01618921
2	+1	3151-3486	hypothetical protein DSY2261	60%	9e-15	<i>Desulfitobacterium hafniense</i> Y51	YP_518494
3	-1, -2, -3	5909-6387	Mg chelatase-related protein	76%, 55%, 76%	2e-10	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001515706
4	+2, +3	9444-10493	hypothetical protein CY0110_07314	85%, 88%, 63%	3e-103	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728735
5	-2, -3	15493-15860	Pentapeptide repeat	80%, 66%	9e-19	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517898
6	-1, -2, -3	20845-21772	Anti-Sigma-factor antagonist and sugar transfersase	56%, 79%, 80%, 70%	3e-52	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01726435
7	-1, -2, -3	23740-24461	unnamed protein product	75%, 52%, 78%	5e-29	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89862
8	-1, -2	26719-27370	hypothetical protein CY0110_12822	57%, 66%	2e-30	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01729432
9	-2	29590-30096	orfAB	47%	6e-07	<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120	AAC97588
10	-1, -3	36350-36602	unnamed protein product	65%, 60%	7e-05	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618
11	+2, +3	41942-42464	Protein of unknown function DUF820	46%, 60%	2e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514570
12	-1, -2, -3	43792-44557	probable sulfotransferase	70%, 78%, 57%	1e-49	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01732095
13	+3	63201-63683	oxidoreductase, short-chain dehydrogenase/reductase family	48%	8e-06	<i>Sorangium cellulosum</i> 'So ce 56'	YP_001612321
14	+2, +3	70466-70883	unnamed protein product	71%, 64%	3e-21	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618
15	+1, +2, +3	71464-72161	serine/threonine protein kinase	58%, 61%, 70%	3e-26	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731251
16	+1, +2	72631-72934	hypothetical protein CwatDRAFT_4770	67%, 54%	6e-07	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515299
17	-3	78804-78962	hypothetical protein CY0110_27074	83%	5e-16	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731138
18	+2, +3	79536-80140	hypothetical protein MAE_45880	75%, 68%	2e-57; 0,29	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001659602
19	-2, -3	80427-80838	unnamed protein product	55%, 52%	9e-07; 0,15	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89862

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
20	-3	88809-89006	hypothetical protein CY0110_03639	62%	3e-06	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727528
21	-1, -2, -3	89090-89585	Sodium:galactoside symporter	59%, 71%, 73%	2e-22	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517271
22	-2, -3	96616-96842	hypothetical protein MAE_07250	71%, 70%	5e-13	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001655739
23	-1	96887-97120	hypothetical protein CY0110_11227	71%	2e-19	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01730915
24	+1	101101-101265	hypothetical protein CwatDRAFT_5391	68%	6e-06	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514445
SK13A12, SK20A4, SK32H8 und SKKH5A							
Contig 1							
25	+1	5530-5796	FdxN	38%	0,12	<i>Cyanotheca</i> sp. PCC 8801	AAC33373
26	-2	25051-25206	Flavodoxin, long chain	69%	3e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515759
27	-1, -2	31862-32196	hemolysin	67%, 64%	4e-09	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728583
28	-1, -2	32914-33427	Putative esterase	53%, 70%	8e-16, 5e-15	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514941
29	+1	45200-45502	transposase, putative	52%	5e-05	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001520643
30	+2, +3	47271-48036	COG0654: 2-polyprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase and related FAD-dependent oxidoreductases	48%, 61%	5e-18	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00110350
31	+1, +2, +3	54191-54957	COG2220: Predicted Zn-dependent hydrolases of the beta-lactamase fold	68%, 55%, 58%	3e-36	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108327.
32	-2, -3	55107-55494	hypothetical protein CY0110_12532	78%, 72%	1e-22	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731954,
Contig 2							
33	+2	6368-7033	Alpha/beta hydrolase fold	47%	3e-14	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514701
34	+2	7157-7357	photosystem II extrinsic protein	67%	3e-09	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001660022
Contig 3							
35	-2, -3	2540-3849	aldehyde dehydrogenase	58%, 61%	3e-82	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01623641
SK40A11 und SKKH26-C							
36	+1, +2, +3	908-2196	unnamed protein product	70%, 63%, 61%	1e-89, 1e-89, 2e-04	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO90756
37	-3	12970-13272	hypothetical protein CY0110_27355	59%	1e-06	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01729498
38	+2	21866-22021	unnamed protein product	64%	2e-06	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902
39	+2, +3	24689-25225	hypothetical protein CwatDRAFT_2668	60%, 65%, 56%	3e-09; 3e-09; 0,032	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517115

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
40	-1	29826-30668	3-beta hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase	81%	3e-110	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730803
41	-1, -2, -3	31007-32048	GDP-D-mannose dehydratase	81%, 90 %, 79 %	1e-131	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730804
42	+1	35000-35236	Peptidase S49, SppA 67 kDa type:Peptidase S49, SppA	63%	3e-09	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518433
43	-2, -3	40704-41036	Protein of unknown function DUF1499	61%, 75%, 92%	1e-07	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00514967
44	+3	41782-41922	Eukariotic protein kinase	76%	1e-09	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_441711
45	+3	42025-42261	Pentapeptide repeat	59%	9e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518890
46	+1	45305-45610	uma4	59%	3e-07	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89678
47	+1, +2, +3	47219-47763	Protein of unknown function DUF820	64%, 72%, 92%	2e-25	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00515541
SK5F5							
Contig 1							
48	-2	21704-21808	photosystem II CP43 protein	74%	3e-04	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_441119
49	-1, -2, -3	21871-22094	photosystem II D2 protein	63%, 65%, 78%	6e-05	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728138
50	-1	23106-23867	cobalt ABC transporter ATP binding protein	81%	6e-99	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732256
51	+1	27928-28167	inorganic polyphosphate/ATP-NAD kinase	73%	3e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726396
SK29A9							
Contig 1							
52	-1, -2, -3	309-1203	hypothetical protein tll0507	73%, 83%, 75%, 81%, 82%, 81%	1e-17; 1e-17; 1e-08; 1e-08; 0,15; 0,15	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_681297
53	+1	5047-5145	unnamed protein product	72%	5e-05	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO91144
54	+2, +3	6959-7784	protochlorophyllide oxidoreductase	79%, 48%	2e-56, 1e-10	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_320815
Contig 2							
55	-1	2499-3146	heme oxygenase	52%	1e-29	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730676
56	-1, -3	3241-3800	neopullulanase	67%, 64%	2e-44	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730777
SK8G11							
Contig 2							

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
57	-1	1132-1218	hypothetical protein CY0110_21917	75%	2e-05	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727666
SK3B7							
Contig 1							
58	-1	1059-1427	hypothetical protein CwatDRAFT_4770	60%	3e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515299
59	-2, -3	3331-3673	hypothetical protein CwatDRAFT_3691	75%, 72%	3e-31	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516225
60	-3	6112-6492	hypothetical protein CY0110_03289	59%	2e-15	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727458
Contig 2							
61	+1, +2	1534-2467	conserved hypothetical protein	54%, 64%	7e-13, 6e-05,	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514257
62	+1, +2, +3	3934-5062	Insulinase-like:Peptidase M16, C-terminal	66%, 64%, 65%, 71%	3e-57, 3e-57, 3e-57, 1e-16	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516754
SK4B5							
Contig 1							
63	-2, -3	1078-2370	nicotinate phosphoribosyltransferase	57%, 57%, 73%	1e-69	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731647
SK3E12							
Contig 2							
64	-2, -1	4741-5600	hypothetical protein CY0110_20990	68%, 61%	7e-47	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01732638
65	+2, +3	6690-7054	Protein of unknown function DUF820	56%, 63%	3e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516542
Contig 3							
66	+1, +2, +3	4237-4670	type I secretion target repeat protein	61%, 60%, 61%	4e-10	<i>Photobacterium profundum</i> 3TCK	ZP_01219773
SK11F6							
Contig 1							
67	-1, -2, -3	3748-4381	Peptidase S26A, signal peptidase I	68%, 69%, 39%, 53%	6e-05; 6e-05; 6e-05; 0,88	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727689
Contig 2							
68	+1, +3	5626-5964	hypothetical protein CY0110_09390	49%, 58%, 76%	2e-08	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731803
69	-2	7296-7706	unnamed protein product	49%	1e-05	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902
Contig 3							
70	+2	362-526	carboxypeptidase G2	65%	2e-06	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728552
SK19D8							
Contig 3							
71	+2	509-679	unnamed protein product	64%	3e-07	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902
72	-3	999-1178	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 1	66%	5e-08	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514099
Contig 4							

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
73	+1	49-1524	Carotene 7,8-desaturase	75%	2e-180	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514472
SK4D1							
Contig 1							
74	-1, -3	6821-7677	hypothetical protein CY0110_21445	71%, 86%	5e-70	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01731991
Contig 2							
75	-1	4788-5810	ferredoxin-NADP oxidoreductase	88%	2e-160	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01730168
Contig 3							
76	-2, -3	737-1744	Alpha/beta hydrolase fold protein	77%, 76%, 68%	2e-91	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01729931
77	-1	4995-5363	unnamed protein product	45%	2e-06	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618
Contig 4							
78	+3, +2	1800-2533	MazG, bacterial	77%, 80%	3e-68	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515952
SK3B4							
Contig 1							
79	+2	3575-4309	hypothetical protein CwatDRAFT_4062	54%	2e-09, 2e-06	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515837
Contig 2							
80	-2	2871-3344	6-phosphogluconate dehydrogenase, NAD-binding protein	58%	2e-16	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728133
81	-1	5719-6021	hypothetical protein CY0110_24216	68%	2e-11	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728014
Contig 3							
82	+3, +1	3-459	gamma-glutamyltranspeptidase	51%, 64%	3e-08	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728767
83	+2, +1	2552-3931	Na(+)-linked D-alanine glycine permease	59%, 51%, 61%	3e-59	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01621160
Contig 5							
84	+3	93-212	hypothetical protein CwatDRAFT_2680	75%	5e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517142
SK32A5							
Contig 1							
85	+1, +3	750-1367	hypothetical protein CY0110_25186	78%, 54%, 63%	5e-23	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728450
86	+3, +1	3228-3429	high-affinity branched-chain amino acid transport permease protein	80%, 76%	7e-09	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01727670
Contig 2							
87	+2	2144-2488	hypothetical protein Npun02008124	52%	5e-05	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00106216.2
Contig 3							
88	+3	726-968	hypothetical protein CY0110_29374	60%	6e-09	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01728607
Contig 4							
89	-3	108-557	ThiG protein	84%	2e-51	<i>Cyanotheca</i> sp. CCY0110	ZP_01730403
Contig 6							
90	-1	704-1423	Glycolate oxidase subunit GlcD	46%	3e-26	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518485
SK42B10							
Contig 1							

Pseudogen	Leserahmen	Position	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.
91	+1, +2	5194-5617	transposase	54%, 58%	5e-16	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001655456
92	-1	9916-13866	CobN/magnesium chelatase	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515704
93	-1	16201-16434	precorrin-8X methylmutase	56%	2e-05	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_320995
94	-1, -2	16728-17082	hypothetical protein CY0110_22262	58%, 63%	4e-10	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727735
<i>Contig 2</i>							
95	+3, +1	3963-4326	unnamed protein product	68%, 57%	6e-14	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89862
96	-1, -2, -3	4343-5126	polysaccharide deacetylase family protein	77%, 61%, 62%, 79%	1e-06, 1e-06, 7e-06, 7e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729274
97	+1, +2, +3	5584-6871	hypothetical protein alr1370	52%, 67%, 46%	1e-59; 1e-59; 0,63	<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120	NP_485413
<i>Contig 3</i>							
98	-2	131-430	ferric uptake regulator, Fur family	57%	9e-12	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_721679
99	+3	2847-3119	heat shock protein DnaJ homolog	58%	4e-10	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_681671
SK42C10							
100	+1, +3	2623-3476	COG1008: NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 4	58%, 70%	1e-45	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00107182
101	+1, +2, +3	7646-8393	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 1	55%, 64%, 88%	6e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730903
102	+3	13935-15629	hypothetical protein CY0110_08031	51%	6e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729928
103	+1	15940-16071	hypothetical protein CY0110_28029	70%	4e-05	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728201
104	+1	18982-19521	Short-chain dehydrogenase/reductase SDR	49%	1e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515569
105	-2, -1	23974-24317	putative glycosyltransferase	67%, 53%	1e-06	<i>Synechococcus</i> sp. WH 5701	ZP_01084356
106	-1, -2	25671-25944	hypothetical protein CwatDRAFT_3575	66%, 83%	7e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516362
107	-1, -2, -3	27643-28453	unnamed protein product	63%, 62%, 63%, 78%, 59%, 82%	1e-19, 1e-19, 1e-19, 1e-19, 8e-10, 8e-10	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89053
108	-1, -2, -3	33485-33999	Ycf37	64%, 75%, 76%	7e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729733

7.5 COGs der identifizierten ORFs des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
1	glutamate 5-kinase	89%	2e-34	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001657179	Amino acid transport and metabolism COG0263 Glutamate 5-kinase
2	Alanine racemase	83%	2e-161	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515676	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0787 Alanine racemase
3	HI0933-like protein, Fumarate reductase/succinate dehydrogenase flavoprotein-like protein	83%	4e-151	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517582	General function prediction only COG2081 Predicted flavoproteins
4	hypothetical protein CY0110_07329	84%	2e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728738	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0465 ATP-dependent Zn proteases
5	hypothetical protein CY0110_07324	93%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728737	General function prediction only COG1853 Conserved protein/domain typically associated with flavoprotein oxygenases, DIM6/NTAB family
6	Putative oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase	74%	2e-134	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514856	Coenzyme transport and metabolism COG0635 Coproporphyrinogen III oxidase and related Fe-S oxidoreductases
7	hypothetisches Protein					
8	transcriptional regulator	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727848	Energy production and conversion COG1145 Ferredoxin
9	hypothetisches Protein					
10	nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase	82%	4e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727847	Coenzyme transport and metabolism COG0157 Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase
11	tryptophan synthase subunit beta	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726743	Amino acid transport and metabolism COG0133 Tryptophan synthase beta chain
12	Prolyl-tRNA synthetase, bacterial	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515644	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0442 Prolyl-tRNA synthetase
13	hypothetical protein CY0110_10702	94%	7e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726434	
14	predicted permease	73%	5e-52	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	YP_001736091	General function prediction only COG0730 Predicted permeases
15	Beta-lactamase-like	86%	1e-55	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513769	General function prediction only COG0491 Zn-dependent hydrolases, including glyoxylases
16	Ribosomal protein L9	88%	6e-61	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516513	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0359 Ribosomal protein L9
17	dihydroorotate dehydrogenase	81%	4e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731587	Nucleotide transport and metabolism COG0167 Dihydroorotate dehydrogenase
18	Serine--glyoxylate transaminase	88%	2e-170	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516278	Amino acid transport and metabolism COG0075 Serine-pyruvate aminotransferase/archaeal aspartate aminotransferase
19	indole-3-glycerol-phosphate synthase	85%	1e-107	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730769	Amino acid transport and metabolism COG0134 Indole-3-glycerol phosphate synthase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
20	hypothetical protein CY0110_25361	93%	7e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730770	Replication, recombination and repair COG0419 ATPase involved in DNA repair
21	hypothetical protein CY0110_25366	86%	2e-32	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730771	General function prediction only COG3668 Plasmid stabilization system protein
22	ribonuclease Z	90%	1e-147	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732250	General function prediction only COG1234 Metal-dependent hydrolases of the beta-lactamase superfamily III
23	rod-shape-determining protein	88%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730959	Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning COG0772 Bacterial cell division membrane protein
24	hypothetical protein CY0110_10662	84%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726426	
25	hypothetisches Protein					
26	Pentapeptide repeat	55%	7e-18	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516198	Function unknown COG1357 Uncharacterized low-complexity proteins
27	Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase, ATPase subunit	79%	2e-134	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516199	Nucleotide transport and metabolism COG0026 Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase (NCAIR synthetase)
28	pleiotropic regulatory protein	88%	3e-165	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729726	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0399 Predicted pyridoxal phosphate-dependent enzyme apparently involved in regulation of cell wall biogenesis
29	ATP-binding protein of ABC transporter	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727571	Defense mechanisms COG1132 ABC-type multidrug transport system, ATPase and permease components
30	hypothetical protein CY0110_12922	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729452	Function unknown COG4370 Uncharacterized protein conserved in bacteria
31	Tryptophan synthase, alpha chain	89%	7e-112	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00519045	Amino acid transport and metabolism COG0159 Tryptophan synthase alpha chain
32	hypothetical protein CY0110_20313	85%	1e-24	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730045	Signal transduction mechanisms COG0642 Signal transduction histidine kinase
33	hypothetical protein CY0110_20308	91%	4e-11	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730044	
34	ABC transporter-like protein	72%	1e-134	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01628660	Carbohydrate transport and metabolism COG3839 ABC-type sugar transport systems, ATPase components
35	Lipolytic enzyme, G-D-S-L	78%	2e-143	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515372	
36	Shikimate kinase	80%	2e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728985	Amino acid transport and metabolism COG0703 Shikimate kinase
37	30S ribosomal protein S21	93%	1e-21	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729210	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0828 Ribosomal protein S21
38	Pentapeptide repeat	76%	3e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729211	Function unknown COG1357 Uncharacterized low-complexity proteins
39	recombinase A	96%	4e-151	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728899	Replication, recombination and repair COG0468 RecA/RadA recombinase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
40	conserved hypothetical protein	54%	1e-26	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514684	
41	Nitrilase/cyanide hydratase and apolipoprotein N-acyltransferase	92%	1e-114	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515883	General function prediction only COG0388 Predicted amidohydrolase
42	Holliday junction resolvase; RuvC	85%	3e-64	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729692	Replication, recombination and repair COG0817 Holliday junction resolvosome, endonuclease subunit
43	60kD chaperonin 2	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726909	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0459 Chaperonin GroEL (HSP60 family)
44	hypothetical protein CY0110_29769	84%	4e-178	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728686	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0845 Membrane-fusion protein
45	hypothetical protein CY0110_29774	83%	4e-133	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728687	Defense mechanisms COG0577 ABC-type antimicrobial peptide transport system, permease component
46	hypothetisches Protein					
47	hypothetical protein CY0110_06739	66%	2e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731351	Replication, recombination and repair COG3415 Transposase and inactivated derivatives
48	Protein splicing (intein) site	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513854	Replication, recombination and repair COG0305 Replicative DNA helicase
49	transaldolase	90%	2e-146	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731137	Carbohydrate transport and metabolism COG0176 Transaldolase
50	hypothetisches Protein					
51	Single-strand binding protein	67%	7e-36	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517866	Replication, recombination and repair COG0629 Single-stranded DNA-binding protein
52	mannose-1-phosphate guanyltransferase	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728062	Cell wall/membrane/envelope biogenesis, Translation, ribosomal structure and biogenesis COG1208 Nucleoside-diphosphate-sugar pyrophosphorylase involved in lipopolysaccharide biosynthesis/translation initiation factor 2B, gamma/epsilon subunits (eIF-2Bgamma/eIF-2Bepsilon)
53	hypothetisches Protein					
54	Nickel-dependent hydrogenase, large subunit	95%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00519188	Energy production and conversion COG0374 Ni,Fe-hydrogenase I large subunit
55	[NiFe] uptake hydrogenase small subunit	95%	3e-168	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728929	Energy production and conversion COG1740 Ni,Fe-hydrogenase I small subunit
56	dimethyladenosine transferase	80%	1e-83	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728744	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0030 Dimethyladenosine transferase (rRNA methylation)
57	shikimate 5-dehydrogenase	82%	2e-99	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731799	Amino acid transport and metabolism COG0169 Shikimate 5-dehydrogenase
58	16S rRNA-processing protein	66%	6e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727507	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0806 RimM protein, required for 16S rRNA processing
59	hypothetisches Protein					

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
60	Ap4A phosphorylase II	69%	2e-78	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730104	Nucleotide transport and metabolism COG4360 ATP adenyltransferase (5',5'''-P-1,P-4-tetraphosphate phosphorylase II)
61	hypothetical protein CY0110_10252	81%	4e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726344	
62	hypothetical protein N9414_00740	64%	3e-38	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	EAW46097	
63	hypothetical protein CY0110_01989	83%	2e-113	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728088	Signal transduction mechanisms COG0589 Universal stress protein UspA and related nucleotide-binding proteins
64	Glutathione synthetase, prokaryotic	87%	1e-140	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514895	Coenzyme transport and metabolism, Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0189 Glutathione synthase/Ribosomal protein S6 modification enzyme (glutaminy transferase)
65	5'-methylthioadenosine phosphorylase	92%	3e-129	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727881	Nucleotide transport and metabolism COG0005 Purine nucleoside phosphorylase
66	2-isopropylmalate synthase	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729780	Amino acid transport and metabolism COG0119 Isopropylmalate/homocitrate/citramalate synthases
67	NifZ	90%	2e-39	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516413	
68	trans-homoaconitate synthase	88%	9e-164	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727755	Amino acid transport and metabolism COG0119 Isopropylmalate/homocitrate/citramalate synthases
69	hypothetical protein CwatDRAFT_3844	90%	1e-22	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516411	
70	hypothetical protein CY0110_22372	76%	6e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727757	
71	serine acetyltransferase	84%	9e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727758	Amino acid transport and metabolism COG1045 Serine acetyltransferase
72	hypothetisches Protein					
73	Nitrogenase cofactor biosynthesis protein NifB	88%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516383	General function prediction only COG0535 Predicted Fe-S oxidoreductases
74	hypothetical protein CY0110_22392	72%	2e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727761	
75	Aromatic amino acid beta-eliminating lyase/threonine aldolase	86%	4e-96	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01620771	Amino acid transport and metabolism COG1104 Cysteine sulfinate desulfinate/cysteine desulfurase and related enzymes
76	Fe-S cluster assembly protein NifU	72%	8e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727764	Energy production and conversion COG0822 NifU homolog involved in Fe-S cluster formation
77	Nitrogenase iron protein	97%	5e-142	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727765	Inorganic ion transport and metabolism COG1348 Nitrogenase subunit NifH (ATPase)
78	Nitrogenase molybdenum-iron protein alpha chain:Nitrogenase component I, alpha chain	95%	1e-109	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516387	Energy production and conversion COG2710 Nitrogenase molybdenum-iron protein, alpha and beta chains
79	Nitrogenase molybdenum-iron protein beta chain	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727767	Energy production and conversion COG2710 Nitrogenase molybdenum-iron protein, alpha and beta chains

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
80	hypothetisches Protein					
81	Nitrogenase MoFe cofactor biosynthesis protein NifE	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727769	Energy production and conversion COG2710 Nitrogenase molybdenum-iron protein, alpha and beta chains
82	Nitrogenase MoFe cofactor biosynthesis protein NifE	86%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727770	Energy production and conversion COG2710 Nitrogenase molybdenum-iron protein, alpha and beta chains"
83	Dinitrogenase iron-molybdenum cofactor biosynthesis	87%	2e-47	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727771	Transcription COG0568 DNA-directed RNA polymerase, sigma subunit (sigma70/sigma32)
84	hypothetical protein	89%	9e-64	<i>Gloeotheca</i> sp. KO68DGA	BAF47157	
85	Protein of unknown function DUF683	77%	3e-20	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516394	Function unknown COG5420 Uncharacterized conserved small protein containing a coiled-coil domain
86	Nitrogen fixation protein NifW	79%	3e-07	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727774	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0008 Glutamyl- and glutaminyl-tRNA synthetases
87	MoeZ/MoeB	88%	2e-86	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727775	Coenzyme transport and metabolism COG0476 Dinucleotide-utilizing enzymes involved in molybdopterin and thiamine biosynthesis family 2
88	HesB protein	80%	4e-24	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727776	Function unknown COG0316 Uncharacterized conserved protein
89	Ferredoxin (2Fe-2S)	93%	5e-42	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01620755	Energy production and conversion COG0633 Ferredoxin
90	hypothetical protein CY0110_22477	89%	1e-38	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727778	
91	hypothetical protein CY0110_22482	68%	4e-29	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727779	
92	hypothetisches Protein					
93	iron(II) transporter	80%	4e-72	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727780	Inorganic ion transport and metabolism COG0370 Fe2+ transport system protein B
94	iron(II) transporter	80%	5e-161	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727781	Inorganic ion transport and metabolism COG0370 Fe2+ transport system protein B
95	FeoA family protein	90%	4e-27	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727782	Transcription COG1321 Mn-dependent transcriptional regulator
96	Molybdate ABC transporter, permease protein	81%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727784	Inorganic ion transport and metabolism COG4149 ABC-type molybdate transport system, permease component
97	4Fe-4S ferredoxin, iron-sulfur binding protein	93%	7e-33	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727785	Energy production and conversion COG1145 Ferredoxin
98	conserved hypothetical protein	85%	8e-56	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514027	
99	hypothetical protein CY0110_15517	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726472	Energy production and conversion COG1032 Fe-S oxidoreductase
100	conserved hypothetical protein	73%	6e-34	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515293	

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
101	Protein of unknown function DUF1499	80%	1e-40	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514942	Function unknown COG4446 Uncharacterized protein conserved in bacteria
102	NADH dehydrogenase (ubiquinone), 30 kDa subunit	90%	3e-87	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518733	Energy production and conversion COG0852 NADH:ubiquinone oxidoreductase 27 kD subunit
103	NADH dehydrogenase subunit B	94%	1e-125	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728727	Energy production and conversion COG0377 NADH:ubiquinone oxidoreductase 20 kD subunit and related Fe-S oxidoreductases]
104	NADH-ubiquinone/plastoquinone oxidoreductase, chain 3	98%	1e-49	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518731	Energy production and conversion COG0838 NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 3 (chain A)
105	hypothetical protein CY0110_01964	81%	2e-143	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728083	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism COG1463 ABC-type transport system involved in resistance to organic solvents, periplasmic component
106	ABC transporter	92%	2e-122	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516248	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism COG1127 ABC-type transport system involved in resistance to organic solvents, ATPase component
107	hypothetisches Protein					
108	hypothetical protein CY0110_11207	67%	1e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730911	Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning COG0772 Bacterial cell division membrane protein
109	Penicillinase repressor	89%	1e-54	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514471	Transcription COG3682 Predicted transcriptional regulator
110	Diaminopimelate epimerase	82%	4e-103	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514083	Amino acid transport and metabolism COG0253 Diaminopimelate epimerase
111	two-component response regulator	85%	2e-84	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729947	Signal transduction mechanisms, Transcription COG2197 Response regulator containing a CheY-like receiver domain and an HTH DNA-binding domain
112	hypothetical protein CY0110_21717	85%	8e-26	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727626	
113	hypothetical protein CY0110_12192	86%	6e-61	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731170	
114	hypothetical protein CY0110_04628	92%	2e-158	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730205	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0438 Glycosyltransferase
115	Orotidine 5'-phosphate decarboxylase	85%	4e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516222	Nucleotide transport and metabolism COG0284 Orotidine-5'-phosphate decarboxylase
116	conserved hypothetical protein	72%	6e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726321	
117	hypothetical protein CY0110_29024	89%	4e-115	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732518	General function prediction only COG0628 Predicted permease
118	UvrD/REP helicase	81%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517150	Replication, recombination and repair COG0210 Superfamily I DNA and RNA helicases
119	hypothetisches Protein					
120	pathogenesis related protein-like	88%	2e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727851	
121	hypothetical protein CwatDRAFT_3418	87%	2e-149	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516541	

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
122	S-adenosyl methionine: tRNA ribosyltransferase-isomerase	82%	4e-143	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729614	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0809 S-adenosylmethionine:tRNA-ribosyltransferase-isomerase (queuine synthetase)
123	hypothetical protein CwatDRAFT_2504	91%	4e-60	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516794	
124	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513730	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1207 N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase
125	hypothetical protein CY0110_12077	88%	3e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731459	
126	FAD dependent oxidoreductase	75%	9e-115	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517000	Amino acid transport and metabolism COG0665 Glycine/D-amino acid oxidases (deaminating)
127	hypothetical protein CY0110_20143	87%	7e-95	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730011	Function unknown COG1836 Predicted membrane protein
128	NADH-plastoquinone oxidoreductase, subunit I:NADH-quinone oxidoreductase, chain I	92%	3e-29	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513936	Energy production and conversion COG1143 Formate hydrogenlyase subunit 6/NADH:ubiquinone oxidoreductase 23 kD subunit (chain I)
129	NADH-ubiquinone/plastoquinone oxidoreductase, chain 6	86%	6e-74	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513937	Energy production and conversion COG0839 NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 6 (chain J)
130	NADH-ubiquinone oxidoreductase, chain 4L	95%	3e-31	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513938	Energy production and conversion COG0713 NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 11 or 4L (chain K)
131	Conserved hypothetical Membrane Protein	73%	4e-43	<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	YP_001733621	General function prediction only COG2389 Uncharacterized metal-binding protein
132	hypothetical protein CY0110_28624	83%	3e-33	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732407	Function unknown COG0762 Predicted integral membrane protein
133	ABC-1	86%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516099	General function prediction only COG0661 Predicted unusual protein kinase
134	GTP-binding protein Era	86%	8e-132	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728587	General function prediction only COG1159 GTPase
135	Adenylate cyclase	83%	1e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729361	Function unknown COG2954 Uncharacterized protein conserved in bacteria
136	hypothetisches Protein					
137	Small GTP-binding protein domain:GTP-binding protein TypA	96%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514387	Signal transduction mechanisms COG1217 Predicted membrane GTPase involved in stress response
138	hypothetical protein CY0110_02454	75 %	1e-51	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728181	Inorganic ion transport and metabolism COG0715 ABC-type nitrate/sulfonate/bicarbonate transport systems, periplasmic components
139	apolipoprotein N-acyltransferase	80 %, 72 %	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727431	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0815 Apolipoprotein N-acyltransferase
140	hypothetisches Protein					
141	hypothetisches Protein					
142	hypothetisches Protein					

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
143	periplasmic binding protein component of an ABC type zinc uptake transporter	74%	1e-91	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728624	Inorganic ion transport and metabolism COG0803 ABC-type metal ion transport system, periplasmic component/surface adhesin
144	ABC transporter	84%	3e-92	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728623	Inorganic ion transport and metabolism COG1121 ABC-type Mn/Zn transport systems, ATPase component
145	hypothetical protein CY0110_29449	87%	1e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728622	Inorganic ion transport and metabolism COG1108 ABC-type Mn ²⁺ /Zn ²⁺ transport systems, permease components
146	hypothetical protein CY0110_03629	74%	5e-174	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727526	Amino acid transport and metabolism COG1506 Dipeptidyl aminopeptidases/acylaminoacyl-peptidases
147	hypothetical protein CY0110_21450	89%	4e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731992	General function prediction only COG0523 Putative GTPases (G3E family)
148	Orn/Lys/Arg decarboxylase, major region:Orn/Lys/Arg decarboxylase, C-terminal	76%	6e-168	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518300	Amino acid transport and metabolism COG1982 Arginine/lysine/ornithine decarboxylases
149	Peptidase S49, SppA	93%	2e-123	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727469	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones, Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG0616 Periplasmic serine proteases (ClpP class)
150	chorismate mutase	81%	3e-36	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_442558	Amino acid transport and metabolism COG4401 Chorismate mutase
151	hypothetical protein CwatDRAFT_0675	79%	1e-21	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518983	
152	hypothetical protein CY0110_05929	88%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730436	Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning COG0772 Bacterial cell division membrane protein
153	put. ATPase	92%	1e-149	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730437	Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning COG0489 ATPases involved in chromosome partitioning
154	fibrillin	88%	9e-82	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728000	
155	Ferredoxin-dependent bilin reductase	75%	3e-77	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516672	
156	Twin-arginine translocation protein TatA/E	83%	3e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727998	Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG1826 Sec-independent protein secretion pathway components
157	phosphopyruvate hydratase	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727912	Carbohydrate transport and metabolism COG0148 Enolase
158	penicillin-binding protein 1A	77%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728717	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0744 Membrane carboxypeptidase (penicillin-binding protein)
159	fumarate hydratase	88%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730416	Energy production and conversion COG0114 Fumarase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
160	recombination protein F	85%	3e-126	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728577	Replication, recombination and repair COG1195 Recombinational DNA repair ATPase (RecF pathway)
161	DNA ligase	54%	4e-56	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731333	Replication, recombination and repair COG0419 ATPase involved in DNA repair
162	hypothetical protein CY0110_12577	78%	3e-126	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729383	Function unknown COG1565 Uncharacterized conserved protein
163	hypothetisches Protein					
164	hypothetical protein CY0110_12567	88%	3e-18	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729381	
165	Lysyl-tRNA-Synthetase	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729379	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG1190 Lysyl-tRNA synthetase (class II)
166	hypothetical protein CY0110_30613	88%	3e-35	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730397	Inorganic ion transport and metabolism COG1226 Kef-type K ⁺ transport systems, predicted NAD-binding component
167	hypothetical protein CwatDRAFT_6741	81%	7e-36	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00513536	
168	Conserved hypothetical protein 423	84%	6e-152	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515906	Coenzyme transport and metabolism, General function prediction only COG1060 Thiamine biosynthesis enzyme ThiH and related uncharacterized enzymes
169	phosphoribosylamine--glycine ligase	73%, 70%	2e-130	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_682629	Nucleotide transport and metabolism COG0151 Phosphoribosylamine-glycine ligase
170	hypothetical protein CY0110_10072	69%	6e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726308	Function unknown COG3339 Uncharacterized conserved protein
171	hypothetisches Protein					
172	hypothetisches Protein					
173	glucose-methanol-choline-oxidoreductase	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514443	Amino acid transport and metabolism COG2303 Choline dehydrogenase and related flavoproteins
174	cytochrome c oxidase, subunit III	86%, 83%	3e-76	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514442	Energy production and conversion COG1845 Heme/copper-type cytochrome/quinol oxidase, subunit 3
175	cytochrome-c oxidase	95%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514441	Energy production and conversion COG0843 Heme/copper-type cytochrome/quinol oxidases, subunit 1
176	cytochrome c oxidase, subunit II	86%	6e-118	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514440	Energy production and conversion COG1622 Heme/copper-type cytochrome/quinol oxidases, subunit 2
177	conserved hypothetical protein	90%	7e-82	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514439	Function unknown COG4244 Predicted membrane protein
178	conserved hypothetical protein	95%	3e-67	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514438	Function unknown COG4244 Predicted membrane protein
179	hypothetisches Protein					

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
180	FAD-dependent pyridine nukleotide-disulphide oxidoreductase	94%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514436	Energy production and conversion COG1252 NADH dehydrogenase, FAD-containing subunit
181	F0F1 ATP synthase subunit beta	95%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727741	Energy production and conversion COG0055 F0F1-type ATP synthase, beta subunit
182	F0F1 ATP synthase subunit epsilon	81%	7e-38	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727740	Energy production and conversion COG0355 F0F1-type ATP synthase, epsilon subunit (mitochondrial delta subunit)
183	Plastid and cyanobacterial ribosomal protein PSRP-3/Ycf65	90%	1e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518462	
184	peptidyl-tRNA hydrolase	85%	1e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729747	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0193 Peptidyl-tRNA hydrolase
185	phosphoglucomutase	92%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728338	Carbohydrate transport and metabolism COG0033 Phosphoglucomutase
186	TPR repeat protein	72%	3e-74	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728262	General function prediction only COG0457 FOG: TPR repeat
187	hypothetisches Protein					
188	Aminotransferase, class I and II	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517710	Amino acid transport and metabolism COG0436 Aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase
189	6-phosphogluconate dehydrogenase	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727589	Carbohydrate transport and metabolism COG0362 6-phosphogluconate dehydrogenase
190	adenosylcobinamide kinase/adenosylcobinamide-phosphate guanylyltransferase	76%	3e-57	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727582	Coenzyme transport and metabolism COG2087 Adenosyl cobinamide kinase/adenosyl cobinamide phosphate guanylyltransferase
191	hypothetical protein CY0110_03874	69%	1e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727575	
192	unnamed protein product	90%	1e-67	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO87956	
193	hypothetisches Protein					
194	hypothetical protein CY0110_20970	84%	7e-106	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732255	General function prediction only COG3694 ABC-type uncharacterized transport system, permease component
195	hypothetical protein CY0110_20965	82%	3e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732254	
196	Glycine cleavage T protein	80%	2e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516133	General function prediction only COG0354 - Predicted aminomethyltransferase related to GcvT
197	Oxidoreductase, N-terminal:Oxidoreductase, C-terminal	87%	1e-161	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517735	General function prediction only COG0673 Predicted dehydrogenases and related proteins
198	Pyruvate, water dikinase	67%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518638	Carbohydrate transport and metabolism COG0574 Phosphoenolpyruvate synthase/pyruvate phosphate dikinase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
199	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	89%	6e-163	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730654	Carbohydrate transport and metabolism COG0057 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase/erythrose-4-phosphate dehydrogenase
200	putative phosphoketolase	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730652	Carbohydrate transport and metabolism COG3957 Phosphoketolase
201	aconitate hydratase	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726634	Energy production and conversion COG1049 Aconitase B
202	hypothetisches Protein					
203	Heat shock protein DnaJ, N-terminal	62%	3e-76	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516921	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0484 DnaJ-class molecular chaperone with C-terminal Zn finger domain
204	glycogen branching enzyme	85%	3e-69	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_442003	Carbohydrate transport and metabolism COG0296 1,4-alpha-glucan branching enzyme
205	hypothetical protein CY0110_07099	81%	9e-45	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730606	General function prediction only COG0730 Predicted permeases
206	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	85%	1e-86	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516266	Coenzyme transport and metabolism COG0259 Pyridoxamine-phosphate oxidase
207	Type III restriction enzyme, res subunit	89%	2e-170	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732137	Transcription, Replication, recombination and repair COG1061 DNA or RNA helicases of superfamily II
208	Cupin region	77%	2e-70	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728391	General function prediction only COG5553 Predicted metal-dependent enzyme of the double-stranded beta helix superfamily
209	hypothetisches Protein					
210	hypothetical protein CY0110_20820	86%	1e-122	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730588	Amino acid transport and metabolism, Signal transduction mechanisms COG0834 ABC-type amino acid transport/signal transduction systems, periplasmic component/domain
211	Protein of unknown function DUF490	68%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514272	Function unknown COG2911 Uncharacterized protein conserved in bacteria
212	K+-dependent Na+/Ca+ exchanger related-protein	85%	3e-79	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516320	Inorganic ion transport and metabolism COG0530 Ca2+/Na+ antiporter
213	Conserved hypothetical protein 730	85%	2e-144	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513670	General function prediction only COG1611 Predicted Rossmann fold nucleotide-binding protein
214	Prolipoprotein diacylglycerol transferase	91%	1e-57	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514940	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0682 Prolipoprotein diacylglycerol transferase
215	translation initiation factor IF-3	94%	1e-72	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730672	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0290 Translation initiation factor 3 (IF-3)
216	methionine sulfoxide reductase A	83%	2e-94	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_321699	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0225 Peptide methionine sulfoxide reductase
217	Precorrin-2 C20-methyltransferase	77%	7e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513836	Coenzyme transport and metabolism COG2243 Precorrin-2 methylase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
218	hypothetical protein CY0110_03279	67%	1e-16	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727456	
219	hypothetical protein CY0110_24711	76%	4e-31	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728355	
220	Peptidase M50	84%	7e-179	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730710	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0750 Predicted membrane-associated Zn-dependent proteases 1
221	COG0557: Exoribonuclease R	91%	9e-30	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108591	Transcription COG0557 Exoribonuclease R
222	hypothetisches Protein					
223	hypothetisches Protein					
224	ATP-dependent protease; ClpP	96%	7e-98	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_442765	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones, Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG0740 Protease subunit of ATP-dependent Clp proteases
225	Aminoglycoside phosphotransferase:Fructosamine kinase	81%	1e-107	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516755	Carbohydrate transport and metabolism COG3001 Fructosamine-3-kinase
226	hypothetical protein CwatDRAFT_1694	78%	6e-18	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517934	
227	UDP-glucose 4-epimerase	90%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731273	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1087 UDP-glucose 4-epimerase
228	hypothetisches Protein					
229	Sulfate transporter/antisigma-factor antagonist STAS: Sulphate transporter	85%	0.0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516813	Inorganic ion transport and metabolism COG0659 Sulfate permease and related transporters (MFS superfamily)
230	transcription antitermination protein NusG	91%	1e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731036	Transcription COG0250 Transcription antiterminator
231	SecE subunit of protein translocation complex	80%	2e-21	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731037	Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG0690 Preprotein translocase subunit SecE
232	Ribosomal protein L19	94%	2e-55	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517492	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0335 Ribosomal protein L19
233	hypothetisches Protein					
234	protein conferring resistance to acetazolamide; Zam	87%	3e-166	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730621	Transcription COG0557 Exoribonuclease R
235	hypothetical protein CwatDRAFT_1836	75%	9e-72	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517852	
236	hypothetical protein CY0110_02577	75%	7e-47	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731645	Nucleotide transport and metabolism COG1051 ADP-ribose pyrophosphatase
237	nicotinic acid mononucleotide adenylyltransferase	89%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731646	Coenzyme transport and metabolism COG1057 Nicotinic acid mononucleotide adenylyltransferase
238	unnamed protein product	79%	0,0	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO87158	General function prediction only COG1123 ATPase components of various ABC-type transport systems, contain duplicated ATPase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
239	Glycosyltransferase	89%	2e-90	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727940	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0463 Glycosyltransferases involved in cell wall biogenesis
240	hypothetical protein CY0110_23856	74%	1e-180	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727942	
241	similar to integral membrane protein	68%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516839	Function unknown COG5617 Predicted integral membrane protein
242	Methyltransferase domain family	74%	7e-72	<i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC 7420	ZP_05029524	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism, General function prediction only COG0500 SAM-dependent methyltransferases
243	hypothetical protein CY0110_23861	77%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727943	Function unknown COG5617 Predicted integral membrane protein
244	hypothetical protein CY0110_11782	71%	3e-150	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729364	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1807 4-amino-4-deoxy-L-arabinose transferase and related glycosyltransferases of PMT family
245	ABC transporter-like protein	85%	3e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731636	Defense mechanisms COG1136 ABC-type antimicrobial peptide transport system, ATPase component
246	Pyridoxal phosphate biosynthetic protein PdxJ	92%	4e-110	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516470	Coenzyme transport and metabolism COG0854 Pyridoxal phosphate biosynthesis protein
247	hypothetical protein CY0110_16032	70%	2e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726575	
248	hypothetical protein CY0110_16047	54%	2e-46	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726578	Function unknown COG1426 Uncharacterized protein conserved in bacteria
249	hypothetical protein CY0110_13536	50%	1e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729043	Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG0552 Signal recognition particle GTPase
250	acetate/propionate kinase	85%	2e-167	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731389	Energy production and conversion COG0282 Acetate kinase
251	hypothetical protein CY0110_26008	70%	8e-13	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728873	
252	hypothetical protein CY0110_00035	75%	4e-171	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728459	Transcription, Replication, recombination and repair COG1199 Rad3-related DNA helicases
253	ferredoxin, 2Fe-2S	96%	1e-37	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728462	Energy production and conversion COG0633 Ferredoxin
254	Oxidoreductase, N-terminal	74%	2e-96	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518400	General function prediction only COG0673 Predicted dehydrogenases and related proteins
255	hypothetical protein CY0110_20815	87%	5e-29	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730587	
256	hypothetical protein CY0110_11807	74%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729369	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0438 Glycosyltransferase
257	hypothetical protein CY0110_11797	86%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729367	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0438 Glycosyltransferase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
258	hypothetical protein CY0110_11792	96%	1e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729366	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism, General function prediction only COG0500 SAM-dependent methyltransferases
259	Holliday junction DNA helicase motor protein	84%	3e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727895	Replication, recombination and repair COG0632 Holliday junction resolvase, DNA-binding subunit
260	hypothetisches Protein					
261	hypothetisches Protein					
262	hypothetical protein CY0110_06329	88%	3e-105	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730730	General function prediction only COG1691 NCAIR mutase (PurE)-related proteins
263	hypothetical protein CY0110_08681	69%	2e-104	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731505	Function unknown COG1426 Uncharacterized protein conserved in bacteria
264	unknown protein	78%	6e-43	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514976	
265	inorganic pyrophosphatase	96%	8e-84	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728361	Energy production and conversion COG0221 Inorganic pyrophosphatase
266	Conserved hypothetical protein Yfch	82%	6e-121	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513853	General function prediction only COG1090 Predicted nucleoside-diphosphate sugar epimerase
267	Bvg accessory factor	69%	7e-61	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513606	Transcription COG1521 Putative transcriptional regulator, homolog of Bvg accessory factor
268	dihydroxy-acid dehydratase	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728069	Amino acid transport and metabolism, Carbohydrate transport and metabolism COG0129 Dihydroxyacid dehydratase/phosphogluconate dehydratase
269	hypothetical protein CwatDRAFT_4009	68%	6e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515929	
270	hypothetical protein CY0110_09385	95%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731802	Inorganic ion transport and metabolism COG0003 Oxyanion-translocating ATPase
271	cytochrome c oxidase subunit III	90%	9e-88	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727475	Energy production and conversion COG1845 Heme/copper-type cytochrome/quinol oxidase, subunit 3
272	hypothetisches Protein					
273	aspartate kinase	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727500	Amino acid transport and metabolism COG0527 Aspartokinases
274	Phosphoglycerate mutase, 2,3-bisphosphoglycerate-independent	87%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518183	Carbohydrate transport and metabolism COG0696 Phosphoglyceromutase
275	protein-export membrane protein	90%	4e-18	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732092	Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG1314 [U] Preprotein translocase subunit SecE
276	Peptidase, metallopeptidase	73%	4e-71	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726282	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG5549 Predicted Zn-dependent protease
277	hypothetisches Protein					

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
278	hypothetical protein CwatDRAFT_2236	90%	3e-50	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517581	
279	chaperonin GroS	86%	1e-43	<i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC 7420	ZP_05026830	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0234 Co-chaperonin GroES (HSP10)
280	chaperonin GroEL	94%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732054	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0459 Chaperonin GroEL (HSP60 family)
281	hypothetisches Protein					
282	4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase	84%	6e-149	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730581	Coenzyme transport and metabolism COG1995 Pyridoxal phosphate biosynthesis protein
283	O-methyltransferase	86%, 100%	2e-11	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01631738	General function prediction only COG4122 Predicted O-methyltransferase
284	acetolactate synthase III large subunit	90%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731805	Amino acid transport and metabolism, Coenzyme transport and metabolism COG0028 Thiamine pyrophosphate-requiring enzymes
285	unknown protein	74%	3e-89	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515289	
286	UDP-N-acetyl-D-mannosaminuronic acid transferase	82%	7e-89	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727944	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1922 Teichoic acid biosynthesis proteins
287	hypothetical protein CY0110_29334	87%	2e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728599	
288	hypothetisches Protein					
289	porphobilinogen deaminase	89%	9e-136	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730102	Coenzyme transport and metabolism COG0181 Porphobilinogen deaminase
290	Coproporphyrinogen oxidase	86%	2e-166	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515789	Coenzyme transport and metabolism COG0408 Coproporphyrinogen III oxidase
291	4Fe-4S cluster binding protein	83%	4e-130	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731487	Energy production and conversion COG1600 Uncharacterized Fe-S protein
292	isopropylmalate isomerase small subunit	84%	2e-80	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729727	Amino acid transport and metabolism COG0066 3-isopropylmalate dehydratase small subunit
293	Phosphoglycerate/bisphosphoglycerate mutase	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516526	Carbohydrate transport and metabolism COG0406 Fructose-2,6-bisphosphatase
294	hypothetical protein CY0110_06259	77%	6e-177	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730716	
295	hypothetical protein CY0110_06254	81%	1e-60	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730715	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1807 4-amino-4-deoxy-L-arabinose transferase and related glycosyltransferases of PMT family
296	hypothetical protein slr0941	90%	5e-66	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_441721	Function unknown COG5637 Predicted integral membrane protein
297	Thiamine monophosphate synthase	82%	1e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516113	Coenzyme transport and metabolism COG0352 Thiamine monophosphate synthase

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
298	hypothetical protein CY0110_27059	79%	6e-22	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731135	Coenzyme transport and metabolism COG2104 Sulfur transfer protein involved in thiamine biosynthesis
283	O-methyltransferase	83%	7e-44	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01631738	General function prediction only COG4122 Predicted O-methyltransferase
299	hypothetical protein CY0110_28514	85%	2e-07	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728298	
300	hypothetisches Protein					
301	hypothetical protein CY0110_27934	87%	2e-89	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731844	Coenzyme transport and metabolism COG0294 Dihydropteroate synthase and related enzymes
302	aspartate aminotransferase	87%	2e-137	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731669	Amino acid transport and metabolism COG0436 Aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase
303	7-cyano-7-deazaguanine reductase	82%	5e-17	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_324909	General function prediction only COG0780 Enzyme related to GTP cyclohydrolase I
304	GAF:ATP-binding region, ATPase-like:Histidine kinase A, N-terminal	67%	9e-96	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516703	Signal transduction mechanisms COG0642 - Signal transduction histidine kinase
305	hypothetical protein CY0110_17722	91%	3e-43	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726913	
306	hypothetical protein CwatDRAFT_3009	70%	8e-33	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516702	
307	hypothetical protein CwatDRAFT_1945	77%	4e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517675	
308	hypothetical protein CwatDRAFT_4564	74%	2e-28	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515492	
309	polynucleotide phosphorylase/polyadenylase	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731846	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG1185 Polyribonucleotide nucleotidyltransferase (polynucleotide phosphorylase)
310	amino acid permease-associated region	85%	4e-12	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_721631	Amino acid transport and metabolism COG0531 Amino acid transporters
311	hypothetical protein CY0110_28569	78%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728309	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG1186 Protein chain release factor B
312	Phosphate uptake regulator, PhoU	85%	1e-87	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728310	Inorganic ion transport and metabolism COG0704 Phosphate uptake regulator
313	methionine aminopeptidase	90%	1e-112	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731738	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0024 Methionine aminopeptidase
314	Hydrogenase accessory protein HypB	63%	1e-09	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730394	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones, Transcription COG0378 Ni2+-binding GTPase involved in regulation of expression and maturation of urease and hydrogenase
315	Hydrogenase expression/synthesis, HypA	85%	9e-44	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515457	General function prediction only COG0375 Zn finger protein HypA/HybF (possibly regulating hydrogenase expression)

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
316	Two component Transcriptional regulator, Winged helix family protein	97%	7e-127	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730213	Signal transduction mechanisms, Transcription COG0745 Response regulators consisting of a CheY-like receiver domain and a winged-helix DNA-binding domain
317	DNA mismatch repair protein	76%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730214	Replication, recombination and repair COG0323 DNA mismatch repair enzyme (predicted ATPase)
318	7-cyano-7-deazaguanine reductase	90%	2e-08	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001518648	General function prediction only COG0780 Enzyme related to GTP cyclohydrolase I
319	hypothetical protein N9414_03688	76%	2e-87	<i>Nodularia spumigena</i> CCY9414	ZP_01630910	Function unknown COG1912 Uncharacterized conserved protein
320	Phosphatidate cytidyltransferase	91%	3e-131	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517082	Lipid transport and metabolism COG0575 CDP-diglyceride synthetase
321	precorrin-6B methylase	88%	3e-87	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732094	Coenzyme transport and metabolism COG2242 Precorrin-6B methylase 2
322	queuine tRNA-ribosyltransferase	85%	1e-31	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01619199	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0343 Queuine/archaeosine tRNA-ribosyltransferase
323	Polyphosphate kinase	91%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514035	Inorganic ion transport and metabolism COG0855 Polyphosphate kinase
324	UDP-N-acetylmuramoylalanyl-D-glutamyl-2, 6-diaminopimelate--D-alanyl-D-alanine ligase	80%	8e-166	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728164	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0770 UDP-N-acetylmuramyl pentapeptide synthase
325	hypothetical protein CY0110_11262	73%	8e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730922	General function prediction only COG0596 Predicted hydrolases or acyltransferases (alpha/beta hydrolase superfamily)
326	hypothetisches Protein					
327	Dihydrouridine synthase TIM-barrel protein nifR3	91%	2e-125	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518361	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0042 tRNA-dihydrouridine synthase
328	hypothetical protein CY0110_27505	92%	1e-20	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729528	General function prediction only COG0795 Predicted permeases
329	ABC transporter	86%	3e-124	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728713	General function prediction only COG4586 ABC-type uncharacterized transport system, ATPase component
330	similar to Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases	87%	8e-133	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515860	Cell wall/membrane/envelope biogenesis, Carbohydrate transport and metabolism COG0451 Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases
331	hypothetical protein CY0110_24206	85%	2e-98	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728012	Function unknown COG0217 Uncharacterized conserved protein
332	Gamma-glutamyl phosphate reductase GPR	88%	2e-94	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515125	Amino acid transport and metabolism COG0014 Gamma-glutamyl phosphate reductase
333	hypothetical protein CY0110_24196	69%	1e-146	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728010	Cell wall/membrane/envelope biogenesis, Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG1538 Outer membrane protein

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
334	CBS:Cl- channel, voltage gated:UspA	84%	1e-78	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516804	Inorganic ion transport and metabolism COG0038 Chloride channel protein Eric General function prediction only COG0517 FOG: CBS domain
335	inorganic polyphosphate/ATP-NAD kinase	92%	2e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729455	Carbohydrate transport and metabolism COG0061 Predicted sugar kinase
336	hypothetical protein CY0110_27495	84%	5e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729526	Function unknown COG1934 Uncharacterized protein conserved in bacteria
337	ABC transporter	92%	3e-41	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_440037	General function prediction only COG1137 ABC-type (unclassified) transport system, ATPase component
338	monophosphatase	84%	5e-93	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728945	Carbohydrate transport and metabolism COG0483 Archaeal fructose-1,6-bisphosphatase and related enzymes of inositol monophosphatase family
339	hypothetical protein CwatDRAFT_2493	72%	1e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516808	
340	hypothetical protein CY0110_11532	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729314	
341	Phenylalanyl-tRNA synthetase, alpha subunit	92%	2e-144	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517188	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0016 Phenylalanyl-tRNA synthetase alpha subunit
342	stationary phase survival protein SurE	89%	2e-120	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732006	General function prediction only COG0496 Predicted acid phosphatase
343	hypothetical protein CY0110_21515	82%	2e-69	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732005	
344	unnamed protein product	87%	3e-66	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO90133	Coenzyme transport and metabolism COG0452 Phosphopantothienoylcysteine synthetase/decarboxylase
345	hypothetical protein CY0110_21702	77%	5e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727623	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1807 4-amino-4-deoxy-L-arabinose transferase and related glycosyltransferases of PMT family
346	COG0438: Glycosyltransferase	85%	5e-131	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108205	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0438 Glycosyltransferase
347	hypothetical protein CY0110_29369	75%	9e-55	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728606	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0739 Membrane proteins related to metalloendopeptidases
348	Excinuclease ABC, C subunit	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516909	Replication, recombination and repair COG0322 Nuclease subunit of the excinuclease complex
349	permease protein of sugar ABC transporter	73%, 80%	7e-15	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01623601	Carbohydrate transport and metabolism COG0395 ABC-type sugar transport system, permease component

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
350	hypothetical protein CY0110_11127	81%	2e-102	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730895	Carbohydrate transport and metabolism, Amino acid transport and metabolism, Inorganic ion transport and metabolism, General function prediction COG0477 Permeases of the major facilitator superfamily
345	hypothetical protein CY0110_21702	76%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727623	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1807 4-amino-4-deoxy-L-arabinose transferase and related glycosyltransferases of PMT family
351	conserved hypothetical protein	80%	4e-45	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514891	
352	Phosphoglucosamine mutase	79%	6e-60	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515797	Carbohydrate transport and metabolism COG1109 Phosphomannomutase
353	ATP synthase F0, C subunit	97%	8e-24	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513999	Energy production and conversion COG0636 - F0F1-type ATP synthase, subunit c/Archaeal/vacuolar-type H+-ATPase, subunit K
354	H+-transporting two-sector ATPase, B/B' subunit	88%	1e-34	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514000	Energy production and conversion COG0711 F0F1-type ATP synthase, subunit b
355	ATP synthase F0, subunit B	73%	3e-40	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514001	Energy production and conversion COG0711 F0F1-type ATP synthase, subunit b
356	F0F1 ATP synthase subunit delta	82%	5e-60	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_440056	Energy production and conversion COG0712 F0F1-type ATP synthase, delta subunit (mitochondrial oligomycin sensitivity protein)
357	ATP synthase subunit A	96%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY011091	ZP_01726959	Energy production and conversion COG0056 F0F1-type ATP synthase, alpha subunit
358	H+-transporting two-sector ATPase, gamma subunit	91%	2e-129	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514004	Energy production and conversion COG0224 F0F1-type ATP synthase, gamma subunit
359	deoxyribose-phosphate aldolase	85%	6e-87	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001661137	Nucleotide transport and metabolism COG0274 Deoxyribose-phosphate aldolase
360	DNA repair protein RecO	71%	1e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730053	Replication, recombination and repair COG1381 Recombinational DNA repair protein (RecF pathway)
361	hypothetical protein CY0110_08676	87%	2e-169	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731504	Carbohydrate transport and metabolism, Amino acid transport and metabolism, Inorganic ion transport and metabolism, General function prediction only COG0477 Permeases of the major facilitator superfamily
362	Biotin/lipoyl attachment:Catalytic domain of components of various dehydrogenase complexes:E3 binding	79%	3e-148	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516546	Energy production and conversion COG0508 Pyruvate/2-oxoglutarate dehydrogenase complex, dihydrolipoamide acyltransferase (E2) component, and related enzymes
363	hypothetical protein CY0110_22257	81%	8e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727734	Cell motility, Signal transduction mechanisms COG0840 Methyl-accepting chemotaxis protein
364	similar to Gas vesicle protein	89%	2e-25	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518785	General function prediction only COG4980 Gas vesicle protein

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
365	bifunctional phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	87%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729789	Nucleotide transport and metabolism COG0138 AICAR transformylase/IMP cyclohydrolase PurH (only IMP cyclohydrolase domain in Aful)
366	penicillin-binding protein 1B	81%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729032	Signal transduction mechanisms COG1716 FOG: FHA domain
367	hypothetical protein CY0110_09026	72%	2e-24	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731590	
368	hypothetical protein Tery_0197	77%	6e-65	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_720159	Function unknown COG5413; Uncharacterized integral membrane protein
369	circadian oscillating polypeptide COP23 precursor	84%	5e-70	<i>Cyanothece</i> sp. PCC 8801	AAC44136	
370	Protein of unknown function UPF0004:tRNA-i(6)A37 modification enzyme MiaB	92%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515902	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0621 2-methylthioadenine synthetase
371	phosphoribosylformylglycinamide synthase subunit PurS	91%	1e-32	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726304	Nucleotide transport and metabolism COG1828 Phosphoribosylformylglycinamide (FGAM) synthase, PurS component
372	phosphoribosyl formylglycinamide synthase	88%	6e-103	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726303	Nucleotide transport and metabolism COG0047 Phosphoribosylformylglycinamide (FGAM) synthase, glutamine amidotransferase domain
373	cysteine synthase	95%	9e-137	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730299	Amino acid transport and metabolism COG0031 Cysteine synthase
374	formamidopyrimidine-DNA glycosylase	81%	3e-100	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728558	Replication, recombination and repair COG0266 Formamidopyrimidine-DNA glycosylase
375	hypothetical protein CwatDRAFT_6283	76%	8e-32	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513997	
376	H ⁺ -transporting two-sector ATPase, A subunit	94%	8e-102	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513998	Energy production and conversion COG0356 F ₀ F ₁ -type ATP synthase, subunit a
377	Dienelactone hydrolase	90%	4e-56	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727552	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism COG0412 Dienelactone hydrolase and related enzymes
378	hypothetical protein CY0110_27790	75%	2e-76	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729585	General function prediction only COG0701 Predicted permeases
379	ankyrin repeat domain-containing protein 50	68%, 54%, 59%	6e-16; 1e-04; 0,014; 0,014; 0,023	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001659476	General function prediction only COG0666 FOG: Ankyrin repeat
380	competence damage-inducible protein A	86%	8e-174	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727831	General function prediction only COG1058 Predicted nucleotide-utilizing enzyme related to molybdopterin-biosynthesis enzyme MoeA

ORF	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
381	Uracil phosphoribosyltransferase	97%	9e-81	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00513534	Nucleotide transport and metabolism COG2065 Pyrimidine operon attenuation protein/uracil phosphoribosyltransferase
382	hypothetical protein CY0110_12082	76%	2e-86	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731460	Function unknown COG4121 Uncharacterized conserved protein
383	S-adenosylmethionine synthetase	91%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730902	Coenzyme transport and metabolism COG0192 S-adenosylmethionine synthetase
384	hypothetical protein CY0110_12307	81%	1e-22	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731193	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG2890 Methylase of polypeptide chain release factors
385	Pyridoxal-5'-phosphate-dependent enzyme, beta subunit	96%	1e-158	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729352	Amino acid transport and metabolism COG0031 Cysteine synthase
386	hypothetical protein CY0110_04004	83%	3e-175	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727601	Function unknown COG0062 Uncharacterized conserved protein
387	hypothetical protein CY0110_03209	88%	2e-82	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727442	
388	hypothetical protein CY0110_03214	89%	3e-85	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727443	Inorganic ion transport and metabolism COG3703 Uncharacterized protein involved in cation transport
389	hypothetisches Protein					
390	hypothetical protein CY0110_29874	80%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728707	Amino acid transport and metabolism COG1231 Monoamine oxidase
391	hypothetical protein CY0110_28849	81%	1e-74	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730177	
392	hypothetisches Protein					
393	hypothetical protein CY0110_16257	90%	8e-67	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726620	Translation, ribosomal structure and biogenesis COG0482 Predicted tRNA(5-methylaminomethyl-2-thiouridylate) methyltransferase,
394	imidazoleglycerol-phosphate dehydratase	91%	2e-92	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726612	Amino acid transport and metabolism COG0131 Imidazoleglycerol-phosphate dehydratase
395	bifunctional GMP synthase/glutamine amidotransferase protein	93%	0,0	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731927	Nucleotide transport and metabolism COG0518 GMP synthase -Glutamineamidotransferasedomain
396	hypothetical protein CY0110_11032	81%	3e-148	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731621	General function prediction only COG1409 Predicted phosphohydrolases
397	Conserved hypothetical protein 91	77%	1e-74	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515971	General function prediction only COG0220 Predicted S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase
398	glutamine-binding protein of glutamine ABC transporter	79%	4e-73	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729732	Amino acid transport and metabolism, Signal transduction mechanisms COG0834 ABC-type amino acid transport/signal transduction systems, periplasmic component/domain

7.6 COGs der identifizierten Pseudogene des bisher sequenzierten Genoms der Sphäroidkörper

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
1	putative transposase	64%, 68%	1e-64	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01618921	Replication, recombination and repair COG0675 Transposase and inactivated derivatives
2	hypothetical protein DSY2261	60%	9e-15	<i>Desulfitobacterium hafniense</i> Y51	YP_518494	Energy production and conversion COG1620 L-lactate permease
3	Mg chelatase-related protein	76%, 55%, 76%	2e-10	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001515706	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0606 Predicted ATPase with chaperone activity
4	hypothetical protein CY0110_07314	85%, 88%, 63%	3e-103	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728735	General function prediction only COG4956 Integral membrane protein (PIN domain superfamily)
5	Pentapeptide repeat	80%, 66%	9e-19	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517898	Function unknown COG1357 Uncharacterized low-complexity proteins
6	Anti-Sigma-factor antagonist and sugar transfersase	56%, 79%, 80%, 70%	3e-52	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726435	Signal transduction mechanisms COG1366 Anti-anti-sigma regulatory factor (antagonist of anti-sigma factor)
7	putative transposase	76%, 80 %	3e-09; 6,8	<i>Cyanothece</i> sp. CCY 0110	ZP_01731542	Replication, recombination and repair COG3293 Transposase and inactivated derivatives
8	hypothetical protein CY0110_12822	57%, 66%	2e-30	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729432	Inorganic ion transport and metabolism COG1226 Kef-type K ⁺ transport systems, predicted NAD-binding component
9	orfAB	47%	6e-07	<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120	AAC97588	Replication, recombination and repair COG3415 Transposase and inactivated derivatives
10	unnamed protein product			<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
11	Protein of unknown function DUF820	46%, 60%	2e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514570	Function unknown COG4636 Uncharacterized protein conserved in cyanobacteria
12	probable sulfotransferase	70%, 78%, 57%	1e-49	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732095	
13	oxidoreductase, short-chain dehydrogenase/reductase family	48%	8e-06	<i>Sorangium cellulosum</i> 'So ce 56'	YP_001612321	General function prediction only COG0300 Short-chain dehydrogenases of various substrate specificities
14	unnamed protein product	71%, 64%	3e-21	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
15	serine/threonine protein kinase	58%, 61%, 70%	3e-26	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731251	General function prediction only, Signal transduction mechanisms, Transcription, Replication, recombination and repair COG0515 Serine/threonine protein kinase

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
16	hypothetical protein CwatDRAFT_4770	67%, 54%	6e-07	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515299	
17	hypothetical protein CY0110_27074	83%	5e-16	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731138	
18	hypothetical protein MAE_45880	75%, 68%	2e-57; 0,29	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001659602	Function unknown COG0586 Uncharacterized membrane-associated protein
19	putative transposase	58%	1,9	<i>Cyanothece</i> sp. CCY 0110	ZP_01731542	Replication, recombination and repair COG3293 Transposase and inactivated derivatives
20	hypothetical protein CY0110_03639	62%	3e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727528	Inorganic ion transport and metabolism COG1226 Kef-type K ⁺ transport systems, predicted NAD-binding
21	Sodium:galactoside symporter	59%, 71%, 73%	2e-22	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517271	Carbohydrate transport and metabolism COG2211 Na ⁺ /melibiose symporter and related transporters
22	hypothetical protein MAE_07250	71%, 70%	5e-13	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001655739	
23	hypothetical protein CY0110_11227	71%	2e-19	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730915	
24	hypothetical protein CwatDRAFT_5391	68%	6e-06	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514445	
25	4Fe-4S ferredoxin, iron-sulfur binding protein	38%	2,5	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727762	Energy production and conversion COG1145 Ferredoxin
26	Flavodoxin, long chain	69%	3e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515759	Energy production and conversion COG0716 Flavodoxins
27	hemolysin	67%, 64%	4e-09	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728583	General function prediction only COG1253 Hemolysins and related proteins containing CBS domains
28	Putative esterase	53%, 70%	8e-16, 5e-15	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514941	General function prediction only COG2819 Predicted hydrolase of the alpha/beta superfamily
29	transposase, putative	52%	5e-05	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	YP_001520643	Replication, recombination and repair COG3335 Transposase and inactivated derivatives
30	COG0654: 2-polyprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase and related FAD-dependent oxidoreductases	48%, 61%	5e-18	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00110350	Coenzyme transport and metabolism, Energy production and conversion COG0654 2-polyprenyl-6-methoxyphenol hydroxylase and related FAD-dependent oxidoreductases
31	COG2220: Predicted Zn-dependent hydrolases of the beta-lactamase fold	68%, 55%, 58%	3e-36	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00108327	General function prediction only COG2220 Predicted Zn-dependent hydrolases of the beta-lactamase fold
32	hypothetical protein CY0110_12532	78%, 72%	1e-22	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731954,	Function unknown COG3803 Uncharacterized protein conserved in bacteria
33	Alpha/beta hydrolase fold	47%	3e-14	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514701	General function prediction only COG0596 Predicted hydrolases or acyltransferases (alpha/beta hydrolase superfamily)

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
34	photosystem II extrinsic protein	67%	3e-09	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001660022	
35	aldehyde dehydrogenase	58%, 61%	3e-82	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01623641	Energy production and conversion COG1012 NAD-dependent aldehyde dehydrogenases
36	thioredoxin reductase	64%, 63%, 61%	3e-83, 1e-04	<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120	NP_484780	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0492 Thioredoxin reductase COG0492 - Thioredoxin reductase COG3118 - Thioredoxin domain-containing protein
37	hypothetical protein CY0110_27355	59%	1e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729498	
38	unnamed protein product	64%	2e-06	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
39	hypothetical protein CwatDRAFT_2668	60%, 65%, 56%	3e-09; 3e-09; 0,032	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517115	
40	3-beta hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase	81%	3e-110	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730803	Cell wall/membrane/envelope biogenesis, Carbohydrate transport and metabolism COG0451 Nucleoside-diphosphate-sugar epimerases
41	GDP-D-mannose dehydratase	81%, 90 %, 79 %	1e-131	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730804	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG1089 GDP-D-mannose dehydratase
42	Peptidase S49, SppA 67 kDa type:Peptidase S49, SppA	63%	3e-09	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518433	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones, Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG0616 Periplasmic serine proteases (ClpP class) (basierend auf Peptidase S49, protease IV [<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110], ZP_01728574)
43	Protein of unknown function DUF1499	61%, 75%, 92%	1e-07	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00514967	Function unknown COG4446 Uncharacterized protein conserved in bacteria
44	Eukariotic protein kinase	76%	1e-09	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803-	NP_441711	General function prediction only, Signal transduction mechanisms, Transcription, Replication, recombination and repair COG0515 Serine/threonine protein kinase Function unknown COG1357 Uncharacterized low-complexity proteins
45	Pentapeptide repeat	59%	9e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518890	Function unknown COG1357 Uncharacterized low-complexity proteins
46	uma4	59%	3e-07	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89678	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
47	Protein of unknown function DUF820	64%, 72%, 92%	2e-25	<i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	ZP_00515541	Function unknown COG4636 Uncharacterized protein conserved in cyanobacteria
48	photosystem II CP43 protein	74%	3e-04	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	NP_441119	
49	photosystem II D2 protein	63%, 65%, 78%	6e-05	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728138	

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
50	cobalt ABC transporter ATP binding protein	81%	6e-99	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732256	Inorganic ion transport and metabolism COG1122 ABC-type cobalt transport system, ATPase component
51	inorganic polyphosphate/ATP-NAD kinase	73%	3e-12	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01726396	Carbohydrate transport and metabolism COG0061 Predicted sugar kinase
52	hypothetical protein tll0507	73%, 83%, 75%, 81%, 82%, 81%	1e-17; 1e-17; 1e-08; 1e-08; 0,15; 0,15	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_681297	Function unknown COG1915 Uncharacterized conserved protein Amino acid transport and metabolism COG1834 N-Dimethylarginine dimethylaminohydrolase
53	putative transposase			<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731542	Replication, recombination and repair COG3293 Transposase and inactivated derivatives
54	prochlorophyllide oxidoreductase	79%, 48%	2e-56, 1e-10	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_320815	Lipid transport and metabolism, Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism, General function prediction only COG1028 Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases)
55	heme oxygenase	52%	1e-29	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730676	Inorganic ion transport and metabolism COG5398 Heme oxygenase
56	neopullulanase	67%, 4%	2e-44	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730777	Carbohydrate transport and metabolism COG0366 Glycosidases
57	hypothetical protein CY0110_21917	75%	2e-05	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727666	
58	hypothetical protein CwatDRAFT_4770	60%	3e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515299	
59	hypothetical protein CwatDRAFT_3691	75%, 72%	3e-31	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516225	
60	hypothetical protein CY0110_03289	59%	2e-15	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727458	Cell motility, Signal transduction mechanisms COG0840 Methyl-accepting chemotaxis protein
61	conserved hypothetical protein	54%, 64%	7e-13, 6e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514257	
62	Insulinase-like:Peptidase M16, C-terminal	66%, 64%, 65%, 71%	3e-57, 3e-57, 3e-57, 1e-16	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516754	General function prediction only COG0612 Predicted Zn-dependent peptidases
63	nicotinate phosphoribosyltransferase	57%, 57%, 73%	1e-69	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731647	Coenzyme transport and metabolism COG1488 Nicotinic acid phosphoribosyltransferase
64	hypothetical protein CY0110_20990	68%, 61%	7e-47	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01732638	
65	Protein of unknown function DUF820	56%, 63%	3e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516542	Function unknown COG4636 Uncharacterized protein conserved in cyanobacteria
66	type I secretion target repeat protein	61%, 60%, 61%	4e-10	<i>Photobacterium profundum</i> 3TCK	ZP_01219773	Secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism COG2931 RTX toxins and related Ca ²⁺ -binding proteins
67	Peptidase S26A, signal peptidase I	68%, 69%, 39%, 53%	6e-05; 6e-05; 0,88	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727689	Function unknown COG2314 Predicted membrane protein

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
68	hypothetical protein CY0110_09390	49%, 58%, 76%	2e-08	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731803	
69	unnamed protein product	49%	1e-05	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
70	carboxypeptidase G2	65%	2e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728552	Amino acid transport and metabolism COG0624 Acetylornithine deacetylase/Succinyl-diaminopimelate desuccinylase and related deacylases
71	unnamed protein product	64%	3e-07	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO89902	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
72	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 1	66%	5e-08	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514099	General function prediction only COG0546 Predicted phosphatases
73	Carotene 7,8-desaturase	75%	2e-180	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00514472	Function unknown COG3349 Uncharacterized conserved protein
74	hypothetical protein CY0110_21445	71%, 86%	5e-70	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01731991	Energy production and conversion COG2048 Heterodisulfide reductase, subunit B
75	ferredoxin-NADP oxidoreductase	88%	2e-160	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730168	Inorganic ion transport and metabolism COG0369 Sulfite reductase, alpha subunit (flavoprotein)
76	Alpha/beta hydrolase fold protein	77%, 76%, 68%	2e-91	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729931	General function prediction only COG0429 Predicted hydrolase of the alpha/beta-hydrolase fold
77	unnamed protein product	45%	2e-06	<i>Microcystis aeruginosa</i> PCC 7806	CAO88618	Replication, recombination and repair COG3464 Transposase and inactivated derivatives
78	MazG, bacterial	77%, 80%	3e-68	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515952	General function prediction only COG1694 Predicted pyrophosphatase
79	hypothetical protein CwatDRAFT_4062	54%	2e-09, 2e-06	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515837	
80	6-phosphogluconate dehydrogenase, NAD-binding protein	58%	2e-16	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728133	Lipid transport and metabolism COG2084 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase and related beta-hydroxyacid dehydrogenases
81	hypothetical protein CY0110_24216	68%	2e-11	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728014	Function unknown COG1950 Predicted membrane protein
82	gamma-glutamyltranspeptidase	51%, 64%	3e-08	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728767	Amino acid transport and metabolism COG0405 Gamma-glutamyltransferase
83	Na(+)-linked D-alanine glycine permease	59%, 51%, 61%	3e-59	<i>Lyngbya</i> sp. PCC 8106	ZP_01621160	Amino acid transport and metabolism COG1115 Na+/alanine symporter
84	hypothetical protein CwatDRAFT_2680	75%	5e-05	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00517142	Replication, recombination and repair COG3335 Transposase and inactivated derivatives
85	hypothetical protein CY0110_25186	78%, 54%, 63%	5e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728450	General function prediction only COG1075 Predicted acetyltransferases and hydrolases with the alpha/beta hydrolase fold
86	high-affinity branched-chain amino acid transport permease protein	80%, 76%	7e-09	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727670	Amino acid transport and metabolism COG0559 Branched-chain amino acid ABC-type transport system, permease components

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI-Accession-Nr.	COG
87	hypothetical protein Npun02008124	52%	5e-05	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00106216.2	
88	hypothetical protein CY0110_29374	60%	6e-09	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728607	
89	ThiG protein	84%	2e-51	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730403	Amino acid transport and metabolism COG0665 Glycine/D-amino acid oxidases (deaminating)
90	Glycolate oxidase subunit GlcD	46%	3e-26	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00518485	Energy production and conversion COG0277 FAD/FMN-containing dehydrogenases
91	transposase	54%, 58%	5e-16	<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-843	YP_001655456	Replication, recombination and repair COG0675 Transposase and inactivated derivatives
92	CobN/magnesium chelatase	85%	0,0	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515704	Coenzyme transport and metabolism COG1429 Cobalamin biosynthesis protein CobN and related Mg-chelatases
93	precorrin-8X methylmutase	56%	2e-05	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	YP_320995	Coenzyme transport and metabolism COG2082 Precorrin isomerase
94	hypothetical protein CY0110_22262	58%, 63%	4e-10	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01727735	Carbohydrate transport and metabolism, Amino acid transport and metabolism, Inorganic ion transport and metabolism, General function prediction only COG0477 Permeases of the major facilitator superfamily
95	putative transposase	62%	6e-07	<i>Cyanothece</i> sp. CCY 0110	ZP_01731542	Replication, recombination and repair COG3293 Transposase and inactivated derivatives
96	polysaccharide deacetylase family protein	77%, 61%, 62%, 79%	1e-06, 1e-06, 7e-06, 7e-06	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729274	Carbohydrate transport and metabolism COG0726 Predicted xylanase/chitin deacetylase
97	hypothetical protein alr1370	52%, 67%, 46%	1e-59; 1e-59; 0,63	<i>Nostoc</i> sp. PCC 7120	NP_485413	
98	ferric uptake regulator, Fur family	57%	9e-12	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	YP_721679	Inorganic ion transport and metabolism COG0735 Fe ²⁺ /Zn ²⁺ uptake regulation proteins
99	heat shock protein DnaJ homolog	58%	4e-10	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	NP_681671	Posttranslational modification, protein turnover, chaperones COG0484 DnaJ-class molecular chaperone with C-terminal Zn finger domain
100	COG1008: NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 4	58%, 70%	1e-45	<i>Nostoc punctiforme</i> PCC 73102	ZP_00107182	Energy production and conversion COG1008 NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit 4 (chain M) shuttles electrons from NAD(P)H, via FMN and iron-sulfur (Fe-S) centers, to quinones in the respiratory chain; subunit D, with NdhB and NdhF are core membrane components;
101	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IA, variant 1	55%, 64%, 88%	6e-23	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01730903	General function prediction only COG0546 Predicted phosphatases
102	hypothetical protein CY0110_08031	51%	6e-75	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729928	Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport COG3210 Large exoproteins involved in heme utilization or adhesion
103	hypothetical protein CY0110_28029	70%	4e-05	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01728201	Function unknown COG2929 Uncharacterized protein conserved in bacteria

Pseudogen	Homologie	Positives	e-value	Organismus	NCBI- Accession-Nr.	COG
104	Short-chain dehydrogenase/reductase SDR	49%	1e-13	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00515569	General function prediction only COG4221 Short-chain alcohol dehydrogenase of unknown specificity
105	putative glycosyltransferase	67%, 53%	1e-06	<i>Synechococcus</i> sp. WH 5701	ZP_01084356	Cell wall/membrane/envelope biogenesis COG0463 Glycosyltransferases involved in cell wall biogenesis
106	hypothetical protein CwatDRAFT_3575	66%, 83%	7e-10	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516362	
107	similar to 2-polyprenyl-3-methyl-5- hydroxy-6-methoxy-1 4-benzoquinol methylase	62%, 71%, 63%, 66%, 72%	7e-17, 3e-16	<i>Crocospaera watsonii</i> WH 8501	ZP_00516031	Coenzyme transport and metabolism COG2227 2-polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-methoxy- 1,4benzoquinol methylase
108	Ycf37	64%, 75%, 76%	7e-28	<i>Cyanothece</i> sp. CCY0110	ZP_01729733	General function prediction only COG0457 FOG: TPR repeat

7.7 Bestimmung der Anzahl an Sphäroidkörpern

Anzahl Sphäroidkörper	1	2	>2	1	2	>2
Medium nach Floener und Bothe ohne N	0,0075 mM K₂HPO₄			0,05 mM K₂HPO₄		
	46,5%	52,8%	0,7%	10,0%*	90,0%*	
	696	791	11	20*	180*	
Auszählung 1	57,1%	42,0%	0,8%			
	68	50	1			
Auszählung 2	31,4%	66,1%	2,5%			
	38	80	3			
Auszählung 3	26,2%	72,5%	1,3%			
	39	108	2			
Auszählung 4	57,6%	42,4%				
	53	39				
Auszählung 5	75,3%	22,8%	2,0%			
	76	23	2			
Auszählung 6	66,7%	33,3%				
	86	43				
Auszählung 7	53,8%	46,2%				
	120	103				
Auszählung 8	38,3%*	61,2%*	0,5%*			
	216*	345*	3*			
0,06 mM Ca(NO₃)₂ x 4 H₂O	60,4%	39,6%		6,0%	89,6%	4,5%
	443	291		8	120	6
Auszählung 1	62,9%	37,1%				
	66	39				
Auszählung 2	84,2%	15,8%				
	85	16				
Auszählung 3	67,7%	32,4%				
	92	44				
Auszählung 4	61,3%	38,8%				
	98	62				
Auszählung 5	44,0%	56,0%				
	102	130				
1 mM Ca(NO₃)₂ x 4 H₂O	35,5%	62,0%	2,5%	31,0%*	69,0%*	
	170	297	12	45*	100*	
Auszählung 1	34,1%	62,8%	3,1%			
	44	81	4			
Auszählung 2	13,8%	81,0%	5,1%			
	16	94	6			
Auszählung 3	47,0%*	52,1%*	0,9%*			
	110*	122*	2*			
4,4 mM Ca(NO₃)₂ x 4 H₂O	37,0%	60,0%	2,9%	17,2%*	82,8%*	
	327	530	26	27*	130*	
Auszählung 1	45,2%	46,0%	8,7%			
	57	58	11			
Auszählung 2	17,0%	79,7%	3,4%			
	20	94	4			
Auszählung 3	16,7%	81,0%	2,4%			
	21	102	3			
Auszählung 4	44,6%*	53,8%*	1,6%*			
	229*	276*	8*			
0,1 mM (NH₄)₂HPO₄	72,3%	26,2%	1,5%	62,5%*	36,5%*	1,0%*
	348	126	7	120*	70*	2*
Auszählung 1	82,1%	17,0%	0,9%			
	87	18	1			
Auszählung 2	51,0%	45,9%	3,2%			
	80	72	5			
Auszählung 3	70,3%	29,7%				
	26	11				
Auszählung 4	85,6%*	13,8%*	0,6%*			
	155*	25*	1*			
1 mM (NH₄)₂HPO₄	58,0%	34,9%	7,1%	7,3%*	90,0%*	2,7%*
	138	83	17	11*	135*	4*
Auszählung 1	35,7%	51,8%	12,5%			
	20	29	7			

Anzahl Sphäroidkörper	1	2	>2	1	2	>2
Auszählung 2	30,0%	40,0%	30,0%			
	3	4	3			
Auszählung 3	66,9%*	29,1%*	4,1%*			
	115*	50*	7*			
MBL-Medium ohne N	27,9%	61,2%	10,9%			
	238	523	93			
Auszählung 1	21,0%	60,1%	18,9%			
	30	86	27			
Auszählung 2	39,8%	55,6%	4,6%			
	43	60	5			
Auszählung 3	40,0%	54,2%	5,8%			
	48	65	7			
Auszählung 4	27,2%	66,2%	6,6%			
	37	90	9			
Auszählung 5	39,6%	58,4%	2,0%			
	59	87	3			
Auszählung 6	10,6%*	68,2%*	21,2%*			
	21*	135*	42*			
1 mM NaNO₃	58,9%	38,6%	2,5%			
	307	201	13			
Auszählung 1	51,4%	44,4%	4,2%			
	37	32	3			
Auszählung 2	79,2%	20,8%				
	76	20				
Auszählung 3	61,5%	34,4%	4,1%			
	75	42	5			
Auszählung 4	57,0%	40,5%	2,5%			
	69	49	3			
Auszählung 5	45,5%	52,7%	1,8%			
	50	58	2			
2 mM NaNO₃	74,2%	25,1%	0,7%			
	553	187	5			
Auszählung 1	74,0%	26,0%				
	54	19				
Auszählung 2	79,1%	19,1%	1,8%			
	87	21	2			
Auszählung 3	64,2%	34,3%	1,5%			
	86	46	2			
Auszählung 4	70,0%	30,0%				
	35	15				
Auszählung 5	80,0%	19,1%	1,0%			
	84	20	1			
Auszählung 6	59,5%	40,5%				
	50	34				
Auszählung 7	83,1%*	16,9%*	157*	32*		
	157*	32*				

*Daten aus Trapp (Trapp 2008)

7.8 C_t-Werte der *Real Time*-PCRs

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
<i>Cyanobacteria</i> sp. ATCC 51142	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	1	32,84	32,95	0,1
				2	33,03		
				3	32,97		
		-NO ₃ ⁻		4	24,48	24,47	0,68
				5	23,79		
				6	25,15		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	1	10,72	11,01	0,26
				3	11,22		
				4	6,13		
		-NO ₃ ⁻		5	5,67	6,62	1,26
				6	8,05		
				7	33,84		
	18.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	7	33,84	33,06	0,77

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
				8	32,31		
				9	33,02		
		-NO ₃ ⁻		10	17,52	17,02	1,4
				11	18,11		
				12	15,44		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	7	12,30	11,9	0,08
				8	11,84		
				9	11,96		
		-NO ₃ ⁻		10	3,95	4,01	0,08
				11	4,99		
				12	4,06		
	24.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	13	30,28	30,37	0,2
				14	30,23		
				15	30,59		
		-NO ₃ ⁻		16	13,45	13,19	0,95
				17	12,14		
				18	13,98		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	13	9,3	9,34	0,31
				14	9,05		
				15	9,67		
		-NO ₃ ⁻		16	5,04	4,88	0,45
				17	4,38		
				18	5,23		
	02.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	19	28,97	28,64	0,29
				20	28,43		
				21	28,51		
		-NO ₃ ⁻		22	12,41	12,74	0,64
				23	12,34		
				24	13,48		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	19	7,28	7,47	0,69
				20	6,89		
				21	8,24		
		-NO ₃ ⁻		22	4,05	4,42	0,73
				23	3,95		
				24	5,27		
	06.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	25	29,87	29,71	0,27
				26	29,4		
				27	29,87		
		-NO ₃ ⁻		28	15,34	14,51	0,73
				29	14,26		
				30	13,94		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	25	10,1	10,07	0,04
				26	10,08		
				27	10,03		
		-NO ₃ ⁻		28	6,74	6,26	0,42
				29	5,93		
				30	6,12		
	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	31	23,89	24,16	0,49
				32	23,87		
				33	24,72		
		-NO ₃ ⁻		34	23,65	23,42	0,41
				35	22,95		
				36	23,67		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	31	3,56	3,69	0,14
				32	3,66		
				33	3,84		
		-NO ₃ ⁻		34	3,89	3,84	0,13
				35	3,69		
				36	3,93		
	18.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	37	22,13	22,47	0,61
				38	22,11		
				39	23,18		
		-NO ₃ ⁻		40	20,25	19,66	1,08
				41	20,32		
				42	18,41		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	37	2,85	2,87	0,13
				38	2,76		

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
				39	3,01		
		-NO ₃ ⁻		40	2,77	2,59	0,3
				41	2,76		
				42	2,24		
	24.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	43	18,64	20,15	1,85
				44	22,22		
				45	19,59		
		-NO ₃ ⁻		46	12,02	11,63	0,35
				47	11,54		
				48	11,34		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	43	4,83	4,01	0,76
				44	3,88		
				45	3,33		
		-NO ₃ ⁻		46	3,61	3,5	0,1
				47	3,48		
				48	3,41		
	02.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	49	20,2	20	0,28
				50	19,68		
				51	20,11		
		-NO ₃ ⁻		52	11,74	11,82	0,64
				53	11,23		
				54	12,5		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	49	2,96	2,93	0,05
				50	2,87		
				51	2,96		
		-NO ₃ ⁻		52	3,49	3,62	0,36
				53	3,34		
				54	4,02		
	06.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	55	25,02	25,13	0,18
				56	25,04		
				57	25,34		
		-NO ₃ ⁻		58	13,62	13,43	0,17
				59	13,35		
				60	13,31		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	55	6,46	6,52	0,06
				56	6,55		
				57	6,56		
		-NO ₃ ⁻		58	4,44	4,08	0,31
				59	3,91		
				60	3,9		
	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	61	26,34	26,14	0,4
				62	26,4		
				63	25,68		
		-NO ₃ ⁻		64	30,02	29,84	0,35
				65	30,06		
				66	29,44		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	61	4,31	3,99	0,31
				62	3,96		
				63	3,69		
		-NO ₃ ⁻		64	7,41	7,44	0,22
				65	7,68		
				66	7,24		
	18.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	67	21,87	20,61	1,49
				68	18,97		
				69	21		
		-NO ₃ ⁻		70	23,45	23,88	0,4
				71	23,93		
				72	24,25		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	67	2,98	3,48	0,46
				68	3,57		
				69	3,88		
		-NO ₃ ⁻		70	4,77	4,83	0,05
				71	4,87		
				72	4,85		
	24.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	73	30,01	31,06	0,94
				74	31,82		
				75	31,34		

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
		-NO ₃ ⁻		76	21,3	21,21	0,61
				77	21,78		
				78	20,56		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	73	10,14	10,38	0,36
				74	10,2		
				75	10,8		
		-NO ₃ ⁻		76	11,23	11,24	0,15
				77	11,39		
				78	11,09		
	02.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	79	29,93	29,42	0,51
				80	29,41		
				81	28,91		
		-NO ₃ ⁻		82	20,59	20,58	0,01
				83	20,57		
				84			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	79	6,79	8,86	1,81
				80	10,18		
				81	9,6		
		-NO ₃ ⁻		82	11,31	10,86	0,64
				83	10,41		
				84			
	06.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	85	27,45	28,56	1,05
				86	29,54		
				87	28,69		
		-NO ₃ ⁻		88	22,87	22,73	0,12
				89	22,68		
				90	22,65		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	85	7,71	7,43	0,24
				86	7,3		
				87	7,29		
		-NO ₃ ⁻		88	10,31	10,59	0,31
				89	10,54		
				90	10,92		
Sphäroidkörper	10.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	1	17,74	17,37	0,41
				2	17,45		
				3	16,93		
		-NO ₃ ⁻		4	19,18	19,23	0,18
				5	19,43		
				6	19,08		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	1	10,5	9,72	0,82
				2	9,79		
				3	8,86		
		-NO ₃ ⁻		4	11,03	10,89	0,35
				5	11,15		
				6	10,5		
	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	7	19,63	19,71	0,07
				8	19,74		
				9	19,76		
		-NO ₃ ⁻		10	19,3	19,28	0,79
				11	18,49		
				12	20,06		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	7	11,69	11,81	0,22
				8	12,06		
				9	11,67		
		-NO ₃ ⁻		10	11,24	11,28	0,52
				11	10,78		
				12	11,81		
	16.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	13	19,53	19,53	0,15
				14	19,67		
				15	19,38		
		-NO ₃ ⁻		16	18,57	18,91	0,47
				17	19,24		
				18			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	13	13,24	13,18	0,32
				14	13,47		
				15	12,83		
		-NO ₃ ⁻		16	10,9	11,46	0,79

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
				17	12,02		
				18			
	22.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	19	14,87	15,13	0,23
				20	15,32		
				21	15,19		
		-NO ₃ ⁻		22	26,04	25,86	0,33
				23	26,06		
				24	25,48		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	19	5,26	6,16	0,84
				20	6,3		
				21	6,92		
		-NO ₃ ⁻		22	15,61	15,55	0,25
				23	15,28		
				24	15,77		
	4.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	25	25,79	25,98	0,17
				26	26,04		
				27	26,12		
		-NO ₃ ⁻		28	27,15	26,88	0,38
				29	26,45		
				30	27,04		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	25	20,8	21,23	0,57
				26	21,88		
				27	21,01		
		-NO ₃ ⁻		28	21,63	20,48	1,1
				29	19,44		
				30	20,37		
	10.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	31	19,52	20,33	1,53
				32	19,38		
				33	22,1		
		-NO ₃ ⁻		34	16,59	16,06	0,47
				35	15,73		
				36	15,85		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	31	10,44	11,87	2,2
				32	10,77		
				33	14,41		
		-NO ₃ ⁻		34	7,75	7,41	0,29
				35	7,28		
				36	7,21		
	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	37	17,07	17,25	0,39
				38	17,69		
				39	16,98		
		-NO ₃ ⁻		40	14,73	15,62	0,89
				41	16,51		
				42	15,61		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	37	9,54	9,8	0,66
				38	10,55		
				39	9,31		
		-NO ₃ ⁻		40	6,83	7,57	0,72
				41	8,27		
				42	7,6		
	16.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	43	15,81	15,81	
				44			
				45			
		-NO ₃ ⁻		46	15,63	16,84	1,15
				47	16,96		
				48	17,92		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	43	6,47	6,47	
				44			
				45			
		-NO ₃ ⁻		46	7,73	8,83	1,28
				47	8,52		
				48	10,23		
	22.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	49	20,05	20,68	2,97
				50	18,08		
				51	23,92		
		-NO ₃ ⁻		52	19,58	17,87	1,49
				53	17,13		

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
				54	16,89		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	49	13,01	13,59	3,45
				50	10,46		
				51	17,29		
		-NO ₃ ⁻		52	11,29	9,35	1,73
				53	8,79		
				54	7,98		
	04.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	55	17,43	17,48	0,26
				56	17,25		
				57	17,77		
		-NO ₃ ⁻		58	23,77	20,28	4,94
				59	16,78		
				60			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	55	8,5	8,35	0,35
				56	7,95		
				57	8,61		
		-NO ₃ ⁻		58	13,8	10,47	4,71
				59	7,14		
				60			
	10.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	61	15,69	15,83	0,12
				62	15,92		
				63	15,88		
		-NO ₃ ⁻		64	13,78	13,99	0,25
				65	14,27		
				66	13,92		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	61	6,31	6,36	0,14
				62	6,26		
				63	6,52		
		-NO ₃ ⁻		64	4,86	5,09	0,29
				65	5,41		
				66	4,99		
	12.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	67			
				68			
				69			
		-NO ₃ ⁻		70	16,64	16,42	0,32
				71	16,19		
				72			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	67			
				68			
				69			
		-NO ₃ ⁻		70	7,54	7,52	0,04
				71	7,49		
				72			
	16.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	73	27,98	27,98	
				74			
				75			
		-NO ₃ ⁻		76	23,89	24,01	0,17
				77	24,13		
				78			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	73	25,38	25,38	
				74			
				75			
		-NO ₃ ⁻		76	18,34	17,92	0,59
				77	17,5		
				78			
	22.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	79	22,48	22,24	0,21
				80	22,15		
				81	22,08		
		-NO ₃ ⁻		82	24,19	24,23	0,05
				83	24,26		
				84			
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	79	13,91	13,53	0,41
				80	13,59		
				81	13,1		
		-NO ₃ ⁻		82	19,74	18,84	1,27
				83	17,94		
				84			

Organismus	Uhrzeit	Medium	Produkt	RNA	C _t -Wert	C _t -Mittelwert	C _t -Standardabweichung
	04.00	+NO ₃ ⁻	<i>nifD</i>	85	24,95	24,86	0,13
				86	24,77		
				87			
		-NO ₃ ⁻		88	18,28	18,06	0,24
				89	17,81		
				90	18,09		
		+NO ₃ ⁻	16S rDNA	85	15,69	15,72	0,04
				86	15,75		
				87			
		-NO ₃ ⁻		88	8,32	8,01	0,51
				89	8,28		
				90	7,42		

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Uwe-G. Maier für die interessante Themenstellung, der Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der finanziellen Mittel sowie seinem Interesse am Fortgang dieser Arbeit.

Im Weiteren gilt mein Dank Prof. Dr. Klaus Lingelbach für die Zweitbegutachtung sowie Prof. Dr. Andreas Brune und Dr. Susanne Önel als weiteren Mitgliedern der Prüfungskommission.

Dr. Stefan Zauner danke ich für seine ständige Diskussionsbereitschaft, zahlreiche Anregungen sowie für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Der gesamten Arbeitsgruppe Maier danke ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die wunderbare Zeit.

Besonderer Dank gilt Eike Trapp und Anne Hartmann für zahlreiche Sequenzierungen, ihre Unterstützung im Rahmen der *Real Time*-PCR auch zu später Stunde und dem Auszählen von Sphäroidkörpern.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für ihre Unterstützung, insbesondere meiner Mama für die in Frankfurt verbrachten Wochen und Tarik für seinen Glauben an mich und das Gelingen dieser Arbeit.

Curriculum vitae

Christine Dede, geb. Voß

geboren am 19. September 1978
in Kiel

seit 01/2005

Promotion

an der Philipps-Universität Marburg
Thema: „Sphäroidkörper in Endosymbiose mit
Rhopalodia gibba: Analysen des Genoms und
Transkriptstudien der Nitrogenase“

01/2005 – 03/2008

wissenschaftliche Mitarbeit

in der zellbiologischen Arbeitsgruppe von Prof. Maier am
Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg,
Betreuung von Diplomanden und studentischen
Kleingruppen,
Anwendung molekularbiologischer, biochemischer und
zellbiologischer Techniken

10/1999 – 08/2004

Studium

der Biologie an der Universität Kassel und an der Philipps-
Universität Marburg
Schwerpunkte: Zellbiologie, Genetik und Parasitologie
Diplomarbeit: „Nucleomorph-codierte tRNAs und ihre
einzigartigen Introns“

08/1998 – 07/1999

Freiwilliges Soziales Jahr

bei Leben mit Behinderung Sozialeinrichtungen gGmbH in
Hamburg

08/1985 - 06/1998

Schulbildung

Grundschule in St. Michaelisdonn
Gymnasium in Marne

Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation „Sphäroidkörper in Endosymbiose mit *Rhopalodia gibba*: Analysen des Genoms und Transkriptstudien der Nitrogenase“ selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg/Lahn, 14. September 2010